



**Universidade de  
Aveiro  
2008**

Departamento de Química

**Catarina Marques Ferreira      Caracterização de Méis da Serra do Caramulo**



**Universidade de  
Aveiro  
2008**

Departamento de Química

**Catarina Marques  
Ferreira**

## **Caracterização de méis da Serra do Caramulo**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química e Qualidade dos Alimentos, realizada sob a orientação científica da Dr<sup>a</sup> Ivonne Delgadillo, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**o júri**

Presidente

Doutor **Manuel António Coimbra Rodrigues da Silva**,  
Professor Associado com Agregação da Universidade de Aveiro

Vogais

Doutora **Ivonne Delgadillo Giraldo**,  
Professora Associada com Agregação da Universidade de Aveiro  
Doutor **Fernando Hermínio Ferreira Milheiro Nunes**,  
Professor Auxiliar da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

## **agradecimentos**

Ao finalizar este trabalho quero manifestar o meu sincero reconhecimento:

À Senhora Professora Doutora Ivonne Delgadillo, pela orientação científica desta dissertação, pelas condições materiais que me proporcionou para o desenvolvimento do trabalho experimental, e ainda pelas valiosas sugestões que contribuíram para o resultado final desta dissertação.

Ao Professor Doutor António Barros, pelo acolhimento que me dispensou para esclarecimento de dúvidas.

À Universidade de Aveiro que me proporcionou as condições indispensáveis à realização deste trabalho.

À Associação de Apicultores da Serra do Caramulo, que disponibilizou as análises físico-químicas, polínicas e organolépticas realizadas ao Mel da Serra do Caramulo.

À Professora Doutora Leticia Fernandes da Universidade de Trás-os Montes e Alto Douro, que disponibilizou alguma bibliografia utilizada na elaboração deste trabalho.

Aos apicultores da Serra do Caramulo que forneceram as amostras de mel para análise por FTIR.

À Direcção Regional de Agricultura da Beira Litoral, que disponibilizou um relatório de caracterização de méis de Portugal.

A todos aqueles que, directa ou indirectamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais e aos meus irmãos, pelo apoio incondicional.

## palavras-chave

Mel, Flora Melífera, FTIR, PCA

## resumo

As zonas de montanha, de uma forma geral, apresentam-se como zonas deprimidas e a necessitam que se criem motivos para elevar o nível de vida das populações.

Os produtos regionais, como por exemplo, o mel, podem ter um papel crucial no desenvolvimento dos meios serranos, nomeadamente no contributo significativo para a melhoria dos rendimentos dos produtores e na preservação /valorização dos recursos das regiões desfavorecidas.

A valorização do mel de uma determinada região tem por base a sua caracterização e tipificação, sendo importante neste caso não só a utilização dos padrões analíticos essenciais fixados pela legislação comunitária e nacional, como também um conjunto de normas físico-químicas, polínicas, sensoriais e microbiológicas que caracterizem de forma homogénea e bem representativa o mel.

Ao abrigo do Programa “Acções de Melhoria e Comercialização do Mel”, foram realizadas análises físico-químicas e polínicas ao mel da Serra do Caramulo para avaliação dos parâmetros clássicos de qualidade do mel (NP-1307, Port. Nº449/76) e confirmação da origem botânica e geográfica.

As análises polínicas, permitiram-nos verificar que a região não é homogénea na produção de méis, existindo três tipos: mel monofloral de *Ericaceae* (>45% de pólen de *Erica* sp.) nas zonas de maior altitude, mel monofloral de *Eucalyptus globulus* L. e mel multifloral com maior ou menor influência de *Eucalyptus globulus* L. e de *Ericaceae*, nas zonas do vale da montanha.

Pretendemos com este trabalho aplicar a análise Multivariada (PCA) aos dados das análises realizadas em 1998, 1999, 2000, 2001 e 2002, de forma a verificarmos a relação entre as amostras e a relação das amostras com os diferentes parâmetros.

É também nosso objecto de estudo a validação da espectroscopia de FTIR, na sua variante ATR, para a discriminação, através de quimiometria, de méis de diferentes zonas na Serra do Caramulo. Pela análise em Componentes Principais, concluímos que os méis monoflorais de *Erica* sp, apresentam valores de índice de formol, H<sub>2</sub>O, acidez e condutividade superiores aos méis monoflorais de *Eucalyptus globulus* L..

Na análise realizada por FTIR, verificou-se a influência de certas interferências (vapor de água, dióxido de carbono) em algumas regiões dos espectros, foram escolhidas diversas zonas para um estudo mais detalhado das características espectrais dos méis, nomeadamente 4000-600 cm<sup>-1</sup>; 3500-2800 cm<sup>-1</sup>; 1800-1200 cm<sup>-1</sup> e 1500-750 cm<sup>-1</sup>.

As principais diferenças entre as amostras verificaram-se na região do “fingerprint”.

## Keywords

Honey, melliferous plant, FTIR, PCA

## abstract

Mountain zones are often depressed areas where the local populations need incentives to improve their quality of life. Regional products, such as honey, may play a crucial role in the development of mountain areas, increasing the producers income and help to the preservation/valorization of the resources in these depressed regions.

For the valorization of this kind of regional product its characterization and tipification is needed, being important not only the compliance of the of analitical parameters fixed by comunitary and nacional legislation, but also the determination of the physical-chemical, sensorial, microbiological charecteristics so as the botanical origin of the pollen.

Making use of the "Actions of Improvement and Commercialization of the Honey Program", the honey from the "Serra do Caramulo" was analysed for the classical physical chemical parameters and for the pollen to determine the botanic origin and verify the geographic origin. The pollinic analisys showed that the region produces 3 types of honey: monofloral honey of *Ericaceae* (>45% of *Erica* sp.) in the higher lands, monofloral honey of *Eucaliptus globulus* L. and multifloral (with more or less influence of *Eucaliptus globulus* L. and *Erica* sp.) in lower lands.

From the PCA, it was possible to conclude that monofloral honeys of *Erica* sp., have higher values of formol, moisture, free acidity, pH, conductivity than monofloral honeys of *Eucaliptus globulus* L...

We also studied the applicability of FTIR spectrometry in combination with chemometrics for the discrimination of honeys of different zones of "Serra do Caramulo".

Given the influence of certain interferences (water vapor and dioxid carbon) in some regions of the FTIR spectra it was made a selection of a few zones for a more detailed study of spectral characteristics, namely 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ ; 3500-2800  $\text{cm}^{-1}$ ; 1800-1200  $\text{cm}^{-1}$  e 1500-750  $\text{cm}^{-1}$ . The most relevant region of discriminatio is "finger print region".

# ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>1</b>
<b>1 - Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 - Objectivos do trabalho .....	3
<b>1.2 –Caracterização da região.....</b>	<b>4</b>
1.2.1 – Localização geográfica.....	4
1.2.2 –Clima .....	5
1.2.2.1 –Precipitação .....	6
1.2.2.2 –Temperaturas .....	6
1.2.3 – Aspectos geomorfológicos .....	7
1.2.4 – Flora .....	9
<b>1.3 – Propriedade físicas do mel .....</b>	<b>14</b>
1.3.1 – Cor.....	14
1.3.2 – Rotação óptica .....	15
1.3.3 – Conductividade eléctrica .....	15
1.3.4 –Viscosidade .....	15
1.3.5 –Cristalização .....	16
1.3.6 –Previsão da tendência de granulação.....	17
<b>1.4 – Parâmetros clássicos de avaliação da qualidade do mel .....</b>	<b>18</b>
1.4.1 – Água .....	18
1.4.2 - Substâncias insolúveis .....	19
1.4.3 - Índice Diastásico .....	20
1.4.4 - Açúcares.....	21
1.4.4.1 - Formação e metabolismo de açúcares.....	22
1.4.5 - Hidroximetilfurfural.....	23
1.4.6 - Cinzas.....	24
1.4.7 - pH e Acidez.....	25
1.4.8 - Índice Formol.....	26
<b>1.5 – Novos parâmetros de avaliação de qualidade do mel .....</b>	<b>27</b>
<b>1.6 –Compostos fenólicos no mel .....</b>	<b>28</b>
1.6.1 – Flavonóides .....	28
1.6.2 –Ácidos Fenólicos .....	32
<b>1.7 – Propriedades antioxidantes no mel .....</b>	<b>34</b>
<b>1.8 – Actividade antimicrobiana do mel .....</b>	<b>35</b>

<b>1.9 –Métodos para determinação da origem botânica e geográfica .....</b>	<b>36</b>
1.9.1 –Ácidos fenólicos e polifenóis .....	38
1.9.2 –Análise de compostos voláteis .....	39
1.9.3 –Análise de aminoácidos.....	40
1.9.4 –Espectroscopia por Infravermelho (IR) .....	40
1.9.5 –Análise Quimiométrica .....	41

<b>1.10 –Análise microscópica do mel .....</b>	<b>43</b>
1.10.1 –Identificação dos grãos de pólen .....	45
1.10.2 –Tipos de análise polínica .....	47

<b>1.11 –Espectroscopia de FTIR.....</b>	<b>48</b>
1.11.1 –O Espectrómetro de FTIR .....	51
1.11.2 –Modos de aquisição dos espectros.....	52
1.11.3 –Análise Multivariada .....	54
1.11.3.1 –Centrar.....	54
1.11.3.2 –Padronizar.....	55
1.11.3.3 –Derivar.....	55
1.11.4– Análise em Componentes Principais .....	56
1.11.4.1–Método PCA.....	57

<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>59</b>
-------------------------	-----------

<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>60</b>
---------------------------------	-----------

<b>2.1 –Métodos Oficiais para determinação de parâmetros de qualidade</b>	
<b>do mel .....</b>	<b>60</b>
2.1.1– Água .....	60
2.1.2 – Índice Diastásico (ID) .....	61
2.1.3 – Hidroximetilfurfural .....	61
2.1.4– Açúcares redutores e sacarose aparente .....	62
2.1.5– Determinação de açúcares.....	62
2.1.5.1 –Determinação de açúcares por GC .....	63
2.1.5.2 –HPLC com detecção amperométrica por pulsos .....	63
2.1.6 – Condutividade eléctrica .....	63
2.1.7– Cinzas .....	64
2.1.8– pH e acidez livre.....	65
2.1.9 – Reprodutibilidade de métodos de análise .....	65

<b>2.2 – Análise Multivariada.....</b>	<b>67</b>
--	-----------



<b>2.3 – Análises por FTIR.....</b>	<b>68</b>
2.3.1– Amostras de mel.....	68
2.3.2 – Aquisição de espectros .....	68
2.3.3 –Análise de Componentes Principais .....	69
 <b>CAPÍTULO 3 .....</b>	 <b>70</b>
 <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	 <b>71</b>
<b>3.1 –Análise Multivariada.....</b>	<b>71</b>
3.1.1 – Média, Valor mínimo, Valor máximo .....	71
3.1.1.1 –Açúcares redutores, sacarose aparente e Índice Diastásico.....	71
3.1.1.2 –Conductividade, cinzas totais, cinzas sulfatadas .....	72
3.1.1.3 –Acidez livre, acidez lactónica e acidez total.....	73
3.1.1.4 –pH, Índice de Formol (IF), HMF.....	74
3.1.2 –Análise por Componentes Principais (PCA) .....	75
3.1.2.1 –Resultados das amostras de 1998 .....	75
3.1.2.2 –Resultados das amostras de 1999 .....	76
3.1.2.3 –Resultados das amostras de 2000 .....	77
3.1.2.4 –Resultados das amostras de 2001 .....	78
3.1.2.5 –Resultados das amostras de 2002 .....	79
3.1.2.6 –Resultados das amostras de 1999, 2000 e 2001 .....	81
3.1.2.7 –Comparação do mel da Região do Algarve com o da S. Caramulo ....	82
3.1.2.8 – Comparação do mel do Douro com o Mel da S. Caramulo.....	83
3.1.2.9 – Comparação do mel da Beira Litoral com o Mel da S. Caramulo.....	84
3.1.2.10 – Comparação do mel da S. Estrela com o Mel da S. Caramulo.....	85
3.1.2.11 – Comparação do Minho com o Mel da S. Caramulo .....	86
3.1.2.12 – Comparação do mel da Beira Interior com o Mel da S. Caramulo ...	87
3.1.2.13 – Comparação do mel da Ilha S. Miguel com o Mel da S. Caramulo..	88
3.1.2.14 – Comparação do mel de diferentes regiões do país .....	89
 <b>3.2 –Análise por FTIR.....</b>	 <b>90</b>
3.2.1 –Aquisição de espectros .....	90
3.2.2 –Análise de Componentes Principais .....	91
 <b>3.3 –Conclusões .....</b>	 <b>92</b>
 <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	 <b>94</b>

## Índice de Figuras

Figura 1 – Recolha de néctar pelas abelhas em flor de pereira, (Silva, 2005) .....	2
Figura 2 – Aspecto geral da paisagem da serra do Caramulo em altitude, (Silva, 2001) .....	8
Figura 3 – Lameiros delimitados com muros de granito, (Ferreira, 2001).....	9
Figura 4 – Matos heliófilos oligotróficos da Serra do Caramulo, com predominância das <i>Ericaceae</i> .....	10
Figura 5 – Flor de <i>Chamaespartium tridentatum</i> .....	12
Figura 6 – Flor de <i>Erica arborea</i> , (Silva 1998) .....	12
Figura 7 – Flor de <i>Erica cinerea</i> , (Silva, 2001) .....	12
Figura 8 – <i>Genista Hystrix</i> , (Silva, 2002) .....	13
Figura 9 – <i>Rubus</i> sp., (Silva, 1999) .....	13
Figura 10 – Açúcares mais representativos no mel, (Andrade, 1995).....	21
Figura 11 – Sistemas de numeração para a maioria dos flavonóides, (Andrade, 1995).....	29
Figura 12 – Diferentes classes de flavonóides, (Andrade, 1995) .....	29
Figura 13 – Estruturas dos principais ácidos benzóicos, (Ribéreau-Gayon, 1968).....	32
Figura 14 – Estruturas dos principais ácidos cinâmicos, (Ribéreau-Gayon, 1968).....	32
Figura 15 – Estrutura do ácido clorogénico, (Andrade, 1995) .....	33
Figura 16 – Estrutura do ácido rosmarínico, (Andrade, 1995).....	33
Figura 17 – Estrutura do ácido feniletilcafeto, (Andrade, 1995).....	33
Figura 18 – Estrutura do ácido dimetilalifecto, (Andrade, 1995).....	33
Figura 19 – Corte transversal de uma flor, ( <a href="http://www.google.com">www.google</a> ).....	43
Figura 20 – Diversos aspectos possíveis da endosperme, (Andrade, 1995).....	45
Figura 21 – Polaridade e simetria do grão de pólen, (Andrade, 1995).....	46
Figura 22 – Esquema de um interferómetro de Michelson, (Pinto, 2002) .....	51
Figura 23 – Esquema de um possível dispositivo usado em Transmissão, (Pinto, 2002).....	52
Figura 24 – Esquema de um dispositivo de ATR, (Bertrand e Dufour, 2000).....	53
Figura 25 – Derivadas aplicadas a uma curva gaussiana, Pinto (2002) .....	56

Figura 26 – Decomposição da matriz inicial na PCA, (Pinto, 2002) .....	57
Figura 27 – Projecções dos dados nos componentes principais, (Pinto, 2002).....	58

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Açúcares presentes no mel, (Andrade, 1995).....	22
Tabela 2 – Flavonóides das amostras de mel de <i>Erica</i> sp., (Andrade, 19995).....	31
Tabela 3 – Métodos para determinação da origem botânica do mel, (Bogdanov, 2004) .....	37
Tabela 4 – Regiões do infra-vermelho, (Pinto, 2002) .....	49
Tabela 5 – Algumas características das bandas na região do “fingerprint” .....	50
Tabela 6 – Reprodutibilidade dos Métodos Oficiais da Comissão Internacional do mel, (Bogdanov, 2000).....	66
Tabela 7 – Resultados da média, Vmínimo, Vmáximo para os açúcares redutores, sacarose aparente e Índice Diastásico .....	71
Tabela 8– Resultados da média, Vmínimo, Vmáximo da condutividade, cinzas totais e cinzas sulfatadas .....	72
Tabela 9 – Resultados da média, Vmínimo, Vmáximo de acidez livre, Lactónica e total ...	73
Tabela 10 – Resultados da média, Vmínimo, Vmáximo de pH, Índice de Formol, HMF ....	74

## Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1998.....	75
Gráfico 2 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1998.....	75
Gráfico 3 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999.....	76
Gráfico 4 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999.....	76
Gráfico 5 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2000.....	77
Gráfico 6 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 - amostras de 2000.....	77
Gráfico 7 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2001.....	78
Gráfico 8 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 - amostras de 2001.....	78
Gráfico 9 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 - amostras de 2002 .....	80
Gráfico 10 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 - amostras de 2002.....	80
Gráfico 11 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999, 2000, 2001.....	81
Gráfico 12 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999, 2000, 2001 .....	81
Gráfico 13 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel da região do Algarve – Serra do Caramulo.....	82
Gráfico 14– Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Mel da região do Algarve – Serra do Caramulo.....	82
Gráfico 15– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel do Douro– Caramulo .....	83
Gráfico 16 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Mel do Douro– Caramulo.....	83
Gráfico 17– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel da Beira Litoral–Caramulo .....	84
Gráfico 18 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel da Beira Litoral–Caramulo.....	84
Gráfico 19– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel Serra da Estrela–Caramulo .....	85
Gráfico 20 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Mel Serra da Estrela–Caramulo.....	85
Gráfico 21– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel do Minho–Caramulo.....	86
Gráfico 22 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel do Minho–Caramulo .....	86
Gráfico 23– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel da Beira Interior–Caramulo .....	87
Gráfico 24 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel da Beira Interior–Caramulo ....	87

## Índice de Gráficos

Gráfico 25– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel da Ilha de S. Miguel–Caramulo..	88
Gráfico 26 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Mel da Ilha de S. Miguel–Caramulo .....	88
Gráfico 27– Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 –Mel de diferentes regiões do país.....	89
Gráfico 28 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel de diferentes regiões do país ...	89
Gráfico 29 – Espectros de amostras de mel, de 2004 na região de “fingerprint” .....	90
Gráfico 30 – Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2004.....	91
Gráfico 31 – Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –amostras de 2004 .....	91

## 1 – INTRODUÇÃO

As zonas de montanha, de uma forma geral, apresentam-se como zonas deprimidas e a necessitam que se criem motivos para elevar o nível de vida das populações. Para atingir tal finalidade é necessário desencadear processos, gerar incentivos para a fixação das gentes em fuga de um meio natural hostil, sobretudo com a criação de novos postos de trabalho.

É neste contexto que os produtos regionais, como por exemplo, o mel, podem ter um papel crucial no desenvolvimento dos meios serranos, nomeadamente no contributo significativo para a melhoria dos rendimentos dos produtores e valorização/preservação dos recursos das regiões desfavorecidas.

Tendo em consideração que, no nosso país há uma crescente procura de produtos tradicionais de qualidade, torna-se indispensável atrair e garantir a segurança aos consumidores, através da oferta de produtos genuínos, com características tradicionais e normas de produção susceptíveis de serem fiscalizados, acumulando todos os requisitos que permitam o uso de marcas de certificação.

A valorização do mel de uma determinada região tem por base a sua caracterização e tipificação, sendo importante neste caso não só a utilização dos padrões analíticos essenciais fixados pela legislação comunitária e nacional, como também um conjunto de normas físico-químicas, polínicas, sensoriais e microbiológicas que caracterizem de forma homogénea e bem representativa o mel (Andrade, 1995).

Segundo a “Norma Regional Europeia recomendada para o mel” (1969) e o Decreto de 22 de Julho de 1976, referente à sua comercialização, entende-se por mel, a substância açucarada produzida pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou das secreções provenientes de outras partes vivas das plantas, ou se encontrem sobre elas, e que as abelhas recolhem, transformam e combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam amadurecer nos favos das colmeias.

De acordo com a origem da matéria-prima, o mel pode ser classificado em mel de néctar ou de melada.

O néctar é originado na seiva das plantas vasculares. Os nectários florais são supridos pelo floema (tecido condutor de materiais orgânicos) e xilema (tecido condutor de água e minerais dissolvidos). As abelhas têm preferência pelo néctar em relação à melada e recolhem-no directamente dos nectários (Figura 1), os quais contêm em média 20-49% de açúcares, produzindo o mel floral ou de néctar (Andrade, 1995).



Figura 1 – Recolha de néctar pelas abelhas em flor de pereira (Silva, 2005).

O néctar contém maioritariamente glucose, frutose e sacarose, com excepção de certas espécies, cujo néctar não apresenta sacarose (Ex: *Brassica campestris* L.). Apresenta ainda pequenas quantidades de maltose e melibiose, e vestígios de rafionse e melizitose.

As análises químicas realizadas ao néctar, sugerem que os teores em glucose, frutose e sacarose estão relacionados com a anatomia do sistema condutor de açúcar das plantas, e que pode ser constante em cada espécie (Rocha, 1996). Segundo Donner (1977), um néctar, cujo açúcar predominante seja a sacarose, provem de flores em que os néctarios florais se encontram bem protegidos, enquanto que flores abertas contém usualmente glucose e frutose.

A concentração de açúcares no néctar depende da espécie vegetal e das condições ambientais, mas normalmente enquadra-se entre 20-40% Mnb (Rocha, 1996).

A melada tem a mesma origem do néctar, ou seja, no floema das plantas, mas ao contrário do néctar, a melada chega geralmente às abelhas de uma forma indirecta: os insectos (afídeos, pulgas, cochonilhas) ao alimentam-se da seiva do floema de várias árvores excretam um líquido doce que posteriormente é recolhido pelas abelhas.



## 1.1 – Objectivos do trabalho

Ao abrigo do Programa de “Acções de Melhoria e Comercialização do Mel”, foram realizadas análises físico-químicas, organolépticas e polínicas ao mel da Serra do Caramulo, durante 4 anos (1998, 1999, 2000, 2001) para determinação dos parâmetros clássicos de qualidade e confirmação da origem botânica e geográfica do mel. Em 2002 foram apenas realizadas análises físico-químicas, ocorrendo neste ano mudança de laboratório.

Com base nas análises polínicas, verificamos que as características palinológicas dos méis da Serra do Caramulo são: predominância de pólen de *Ericaceae* (tipo *Erica* sp. - urze) – mel monofloral de urze; predominância de pólen de *Eucalyptus globulus* L. - mel monofloral de eucalipto e as combinações de *Eucalyptus globulus* L, *Ericacea* e *Castanea Sativa* Miller – mel multifloral.

Tendo como objectivo do nosso trabalho contribuir para a caracterização de méis monoflorais da Serra do Caramulo, e sabendo à partida que os méis multiflorais não constituem em si um grupo coeso de características específicas, as amostras de mel multifloral não foram contempladas no nosso estudo. Através da Análise Multivariada, nomeadamente Análise em Componentes Principais (PCA), pretendemos identificar as características mais relevantes de cada tipo de mel da Serra do Caramulo: monofloral de *Ericaceae* (tipo *Erica* sp. – urze) e monofloral de *Eucalyptus globulus* L (eucalipto).

É nosso intuito corroborar o método de PCA, para discriminação, de méis de diferentes origens geográficas.

É também nosso objecto de estudo validar a espectroscopia de FTIR, na variante ATR, para discriminação, em quimiometria, de méis de diferentes zonas da Serra do Caramulo.

## **1.2- Caracterização da região**

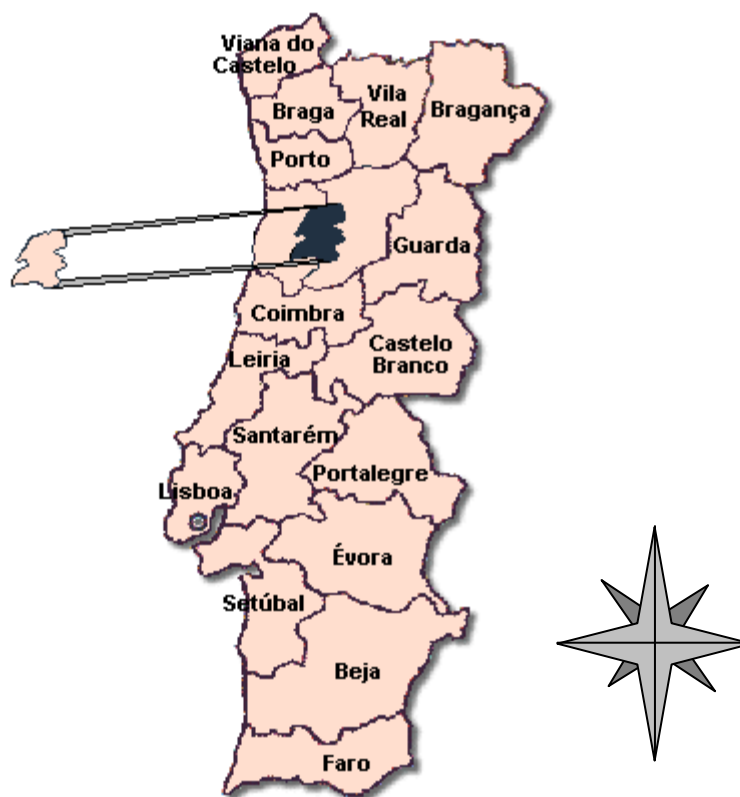
As características físico-químicas e polínicas do mel dependem do ecossistema do local onde se encontram as colmeias, estando directamente relacionadas com os recursos florísticos e o clima da região.

Assim sendo, pareceu-nos pertinente abordar, de uma forma simples, as características edafo-climáticas da região: clima, solos e flora apícola, de forma a compreendermos a heterogeneidade do mel da Serra do Caramulo (comprovada pelas análises químicas, polínicas e organolépticas realizadas).

### **1.2.1 - Localização geográfica**

A Serra do Caramulo separa a Beira Litoral da Beira Alta e as bacias hidrográficas do Rio Vouga e do Rio Mondego, sendo limitado a norte pela sub-região de Lafões e a Oriente pela sub-região de Besteiros, pertencendo esta à bacia do Mondego.

Esta região abrange uma parte do Concelho de Vouzela (Freguesia de Ventosa, Cambra, Carvalhal de Vermilhas, Alcoba e Fornelo do Monte), concelho de Oliveira de Frades (Varzielas e Destriz), Tondela (Guardão, Mosteirinho, São João do Monte, Silvaes) e ainda uma parte dos concelhos de Águeda e Mortágua.



Mapa 1 – Localização geográfica da Serra do Caramulo

### 1.2.2 - Clima

A distribuição regional do clima apresenta uma variação acentuada do litoral para o interior, resultante da diminuição progressiva da intensidade e frequência de penetração das massas de ar atlântica, que não é facilitada pela Serra do Caramulo, e que vai originar uma modificação dessas massas na sua deslocação sobre o continente.

### **1.2.2.1 – Precipitação**

A precipitação distribui-se de uma forma irregular na Serra do Caramulo: esta vai aumentando das terras baixas do litoral até às terras altas, onde ultrapassa os 2000 mm anuais.

Na vertente SE da serra a precipitação é mais moderada, devido à ascensão das massas de ar com menor humidade. Daí resultam chuvas fracas, embora se apresente uma forte nebulosidade.

Os ventos mais pluviosos, são os SO, que sobem desde o litoral até à cumeada da Serra do Caramulo, fazendo aumentar a pluviosidade de forma gradual. Para além desta linha de alturas, as chuvas diminuem e passam a sofrer acções que fazem lembrar as influências do tipo continental.

A precipitação média anual oscila 2000 mm nas zonas de maior altitude e 1200 mm nas zonas de baixa altitude.

As características climáticas mediterrâneas mais típicas encontram-se nas vertentes de baixa altitude, abrigadas e voltadas a Sul e Sudoeste, sendo confirmadas através da presença das espécies de carvalho Português, sobreiro, medronheiro e outras plantas odoríferas (Pereira, 1988).

### **1.2.2.2 – Temperaturas**

A temperatura média anual é cerca de 14°C.

Nos meses mais quentes, Julho e Agosto, pode atingir temperaturas médias de 20°C e máximas de 38°C.

A temperatura, na Serra do Caramulo, diminui com a altitude e a amplitude da variação anual da temperatura aumenta com a distância ao mar, seu grande regularizador. Nas cumeadas o clima é mais desfavorável pelas temperaturas que se fazem sentir, devido à altitude, e pela influência de ventos fortes nas encostas viradas a ocidente.

A insolação situa-se entre 2300 – 2600 horas/ano, o que significa que existe moderada a elevada disponibilidade energética.

O Verão, nas encostas da serra viradas a Sul é mais quente, tal como nos vales profundos da bacia do Mondego (Pereira, 1988).

### 1.2.3 – Aspectos geomorfológicos

A área em estudo trata-se de uma região extraordinariamente acidentada, de relevo forte e vigoroso, mas que apresenta ao mesmo tempo, variações notáveis do ponto de vista morfológico, em grande parte condicionada pela natureza geológica do terreno.

A diversidade regional do relevo da área da Serra do Caramulo é devida fundamentalmente aos acidentes tectónicos tardi-hercínicos. São eles os responsáveis pelas deformações que vão influenciar os diferentes aspectos e a sua evolução, e através de processos de erosão diferencial, determinar as características topográficas e hipsométricas da região (Pereira, 1988).

A vertente sudoeste do Caramulo é particularmente íngreme, escarpada, em alguns pontos praticamente inacessível, enquanto do lado oposto o relevo se mostra mais suave, descaindo gradualmente em direcção ao vale do Vouga.

A maior parte da região da Serra do Caramulo é constituída, por rochas graníticas, destacando-se os graníticos porfiróides e de natureza calco-alcalina. São rochas com grande variação de textura e mesmo alguma variação mineralógica e química.

Os granitos porfiróides têm uma granulometria que varia, na maior parte dos casos, desde o grão grosseiro, com fenocristais de feldspato até aos granitos de grão médio.

O granito de grão médio ocupa as partes mais elevadas da Serra do Caramulo, sendo ocupados por manchas florestais, estendendo-se pela vertente meridional até ao Campo de Besteiros, onde desce até aos 300-350m.

Embora a maior parte da região seja constituída por rochas graníticas, a sua distribuição mostra algumas irregularidades - em determinados locais (SO) surgem pequenos retalhos xistosos na mancha granítica que, pela sua dureza, escaparam à erosão e ficaram como testemunhos do complexo xisto-grauváquico ante-ordovícico.

No meio da formação xistenta existe uma mancha de quartzitos relativamente extensa que se prolonga para noroeste, com extensão de alguns quilómetros

Relativamente à composição mineralógica, a maioria dos xistos são quartzo – micáceos, com quartzo, biotite e moscovite como minerais essenciais.

As lombas de xisto testemunham um fraco revestimento vegetal e a sua desarborização é um factor muito importante de aceleração dos processos erosivos que ultimamente têm sido reforçados pela catástrofe dos incêndios florestais (Godinho, 1980).

Nas cumeadas, mais ou menos aplanadas, os solos são estreitos e de finos depósitos coluviais, sendo por isso pouco férteis, chegando mesmo a ocupar extensas áreas de incultos (Figura 2 e 3).



Figura 2 – Aspecto geral da paisagem da Serra do Caramulo em altitude, 1000m, (Silva, 2001).



Figura 3 – Lameiros delimitados com muros de granito, (Ferreira, 2001).

#### 1.2.4 – Flora

Conforme foi referido atrás, o ambiente biogeográfico da Serra do Caramulo, apresenta um contraste de grande nitidez entre as vertentes ocidentais, que sofrem a acção dos ventos húmidos, e são por isso mais frescas, e as orientais, com diversas exposições ao sol, que se apresentam mais quentes e secas.

É evidente o reflexo destes condicionalismos (altitude, exposição ao sol e ventos húmidos) no revestimento vegetal, que não é homogéneo, face à influência dos múltiplos factores, por exemplo, o tipo arquitéctónico, os afloramentos rochosos e a composição geológica.

O revestimento vegetal na encosta virada a ocidente apresenta uma fisionomia que resulta da acção oceânica, onde o ar é mais brumoso e o solo mais húmido, que dá origem a uma policromia vegetal acentuada, devido às diferentes aptidões de ocupação agro-florestal (Pereira, 1988).

À medida que a altitude aumenta, os pinhais e eucaliptais vão escasseando ao mesmo tempo que aumenta o número de carvalhos (*Quercus pyrenaica*) e castanheiros (*Castanea sativa* Miller).



Os cimos da serra são ermos e a vegetação escassa, dominando as *Ericaceas*, cujas espécies mais representativas são a *Erica* sp. e *Erica umbellata*.

É de salientar que as espécies com maior interesse apícola se situam nos matos heliófilos que correspondem a “habitats” claramente degradados (Figura 4). Prova-se assim que a flora melífera atinge uma abundância máxima em formações muito regressivas da sucessão ecológica, o que a torna um recurso valioso em áreas muito degradadas de pouco interesse agrícola e florestal.



Figura 4 - Matos heliófilos oligotróficos da Serra do Caramulo, com predominância das *Ericaceas*, (Ferreira, 1997).



Os recursos apícolas na Serra do Caramulo dependem fundamentalmente da flora melífera espontânea inserida no estrato arbóreo, arbustivo e herbáceo.

**1- Estrato arbóreo**

- *Pinus pinaster* Aiton– pinheiro-bravo
- *Castanea sativa* Miller– castanheiro
- *Quercus* spp – carvalho alvarinho
- *Eucalyptus glóbulus* L.– eucalipto
- *Tilia* sp. – tília

**2 – Estrato arbustivo**

- *Calluna vulgaris*: torga ou magoriça
- *Chamaespartium tridentatum*: carqueija (Figura 5)
- *Erica arbórea*: urze branca (Figura 6)
- *Erica cinerea*: urze (Figura 7)
- *Erica umbellata*: queiró
- *Thymus pulegioides* L.: salvia
- *Ulex* sp.: tojos
- *Genista* sp. giesta
- *Genista Hystrix*: giesta branca (Figura 8)
- *Rubus* sp.: silva (Figura 9)



Figura 5 – Flor de *Chamaespartium tridentatum* (Silva, 1997).



Figura 6 – Flor de *Erica arborea*, (Silva 1998).



Figura 7 – Flor de *Erica cinerea*, (Silva, 2001).





Figura 8 - *Genista Hystrix*, (Silva, 2002).



Figura 9 - *Rubus* sp., (Silva, 1999).

### 1.3 – Propriedades físicas do mel

Segundo White (1979), as características físicas do mel podem ser agrupadas em índice de refração, densidade, densidade relativa, propriedades ópticas (rotação óptica, mutarrotação, cor), propriedades térmicas (calor específico, condutividade térmica, valor calórico), cristalização, higroscopicidade, propriedades coloidais, tensão superficial e condutividade eléctrica.

#### 1.3.1 – Cor

A cor do mel resulta dos distintos graus de absorção da luz a diferentes comprimentos de onda, por parte dos seus componentes, apresentando uma grande variabilidade, desde o amarelo muito pálido (quase branco) até aos negros.

Esta depende essencialmente da sua origem florística (consequentemente com a sua composição química); os pigmentos tais como os carotenos ou as xantofilas e os polifenóis do tipo flavonóide são algumas das substâncias responsáveis pela cor (Gonnet e Vache, 1985).

Fellenberg e Rusiecki (1938), citado por Andrade (1995), verificaram que os méis claros apresentam um maior conteúdo em corantes lipossolúveis, e os méis mais escuros, uma maior quantidade de corantes hidrossolúveis.

Os méis mais escuros apresentam uma composição característica, com uma acidez mais elevada, e um conteúdo superior de substâncias minerais (ferro, cobre e manganês), aminoácidos (sobretudo triosina e triptofano) e ácidos fenólicos, do que os méis mais claros (Andrade et *al.*, 1994).

A cor altera-se com o processamento e armazenamento, escurecendo devido à reacção de Maillard (combinação aminoácido aldeído), e à instabilidade da frutose em soluções ácidas.

A cristalização é outro factor que altera a cor aumentando a luminosidade e diminuindo a pureza cromática (evolução para o branco) razão pela qual se deve liquefazer o mel aquando da sua determinação (Gonnet et *al.* 1983).

### 1.3.2 – Rotação Óptica

No mel, quando a luz polarizada passa através deste, o plano de polarização é deslocado tanto no sentido horário como no sentido anti-horário, de acordo com os diferentes açúcares nele contidos. Esta propriedade denomina-se rotação óptica. A glucose gira no sentido horário (+) e é denominada de dextrogira; a frutose gira no sentido anti-horário (-) é chamada de levogira. Os méis de néctar como têm mais frutose que glucose tem uma rotação específica negativa; por sua vez os méis de melada, com menos frutose, têm geralmente uma rotação específica positiva (Crane, 1979).

### 1.3.3 - Conductividade eléctrica

A conductividade eléctrica é uma propriedade física importante do mel, que está relacionada com o seu conteúdo em sais minerais, ácidos orgânicos, proteínas, açúcares e polióis (Crane, 1979). Méis de uma mesma origem florística têm conductividades eléctricas muito semelhante, mesmo que a origem geográfica e condições climatológicas sejam distintas (Vorwolh, 1964 citado por Serra Bonhevi, 1987).

O valor da conductividade eléctrica do mel permite identificar a sua origem (melada ou néctar), fornece orientações sobre a fonte de néctar e permite a detecção de alimentação artificial das abelhas com açúcar. Assim, quando este parâmetro é medido em soluções de mel a 20% obtém-se valores superiores a **10** ( $10^{-4} \text{ Scm}^{-1}$ ) para méis de melada, de **8 a 14** ( $10^{-4} \text{ Scm}^{-1}$ ) para méis de *Castena sativa* Miller, cerca de **7** ( $10^{-4} \text{ Scm}^{-1}$ ) para méis de *Erica* sp., **1 a 3** ( $10^{-4} \text{ Scm}^{-1}$ ) para méis de *Brassica* sp., *Triolium* sp., *Melilotus*, *Robinia* sp. e *Teucrium* sp..

### 1.3.4 – Viscosidade

A viscosidade é a expressão da resistência de uma substância em fluir. Quanto maior for a viscosidade maior é a resistência. A sua importância reside no facto de condicionar a tecnologia de extracção, o equipamento utilizado no processamento e embalagem do produto.

A viscosidade é condicionada por três factores: teor em água, temperatura, e composição química (nomeadamente dextrinas e substâncias coloidais).

A maior parte dos méis comportam-se como líquidos Newtonianos, mas alguns de entre deles, devido à sua composição particular, têm um comportamento diferente. O mel de *Calluna vulgaris* devido ao elevado conteúdo em proteína (que pode atingir 2%), possui um comportamento tixotrópico, não podendo a sua extracção realizar-se por centrifugação, alguns méis de eucalipto são dilatantes, possuindo uma viscosidade muito elevada quando submetidos a uma agitação, chegando a bloquear o extractor em funcionamento, enquanto que em repouso eles fluem sem dificuldade. Esta propriedade é devida à presença de uma dextrina (Gonnet, 1980).

### **1.3.5 – Cristalização**

O mel é uma solução sobresaturada de açúcares com tendência a cristalizar.

A granulação do mel é um fenómeno natural que depende de vários factores (Sancho 1991):

- Temperatura: a temperatura inferior a 10°C não se verifica a cristalização do mel. A 14°C aumenta o crescimento dos cristais e a temperaturas superiores a 25°C aqueles redissolvem-se.
- Viscosidade- o aumento da viscosidade inibe o processo de cristalização, já que a migração dos cristais de glucose em fase líquida se torna muito lenta.
- Conteúdo em água – os méis com um teor de água inferior a 17% apresentam uma maior tendência para granular. Por outro lado, méis com teores de humidade superiores a 19% têm tendência a fermentar.
- Composição de açúcares – Os microcristais de glucose actuam como núcleos de cristalização, originando a granulação do mel. Em geral, os méis com percentagem inferior a 30% de glucose tendem a granular mais lentamente ocorrendo mesmo com méis que possuem quantidades de melzitose inferior a 10%.
- Presença de partículas em suspensão, que podem servir como núcleos de cristalização, como sejam: grãos de pólen, partículas de cera, pó e bolhas de ar.

Em alguns méis a cristalização não é completa, formando-se uma camada de cristais coberta por uma outra com elevado teor em água, o que pode dar origem a fermentações.

De acordo com Sancho (1991), a glucose torna-se mais solúvel à medida que a concentração de frutose aumenta – em níveis de frutose elevados, o equilíbrio favorece a forma anidra da glucose, que apresenta uma maior solubilidade em água.

### **1.3.6 - Previsão da tendência da granulação**

A tendência de um mel para a granulação tem sido prevista pela utilização de vários parâmetros, baseados na composição química do mel:

- Relação glucose/frutose – White e Maher (1954), citado por Andrade (1995), verificaram que para valores de glucose/frutose inferiores a 1,7 o mel se manteria líquido e com valores superiores a 2,16 seria completa. Contudo já foi comprovado que este parâmetro para prever a cristalização do mel é duvidoso, uma vez que nos méis de baixa humidade a granulação é menor do que a prevista pela relação glucose/frutose.
- Relação (glucose-água/frutose) – Foi proposta por Chandler (1977) e é considerada um bom parâmetro para indicar a granulação, já que tem em consideração a acção inibidora da frutose. Valores inferiores a 0,3 estão relacionados com méis com dificuldade em cristalizar enquanto méis com tendência para granular apresentam valores superiores a 0,49, para este parâmetro.

Índice de Tabouret- é calculado pela seguinte fórmula:

$$\frac{I=(G/A)}{(1-AW)}$$

Onde G=% de glucose; A=% de água; AW= actividade da água do mel, a qual é definida como o quociente entre a tensão de vapor de água na superfície do mel e a tensão de vapor de água na superfície de água livre.

## 1.4 – Parâmetros clássicos de avaliação de qualidade do mel

Os parâmetros químicos de qualidade de mel que constam da “Norme Régionale Européenne pour le miel (FAO/OMS, 1969)”, são definidos pela NP – 1307, Port. N°449/76.

### 1.4.1 – Água

O teor de água de um mel depende da humidade da respectiva matéria-prima (néctar ou melada), que, por sua vez, depende da planta ou insecto e das condições edafo-climáticas de uma dada região. Relacionando-se também com a concentração em sacarose do néctar cuja hidrólise em glucose e frutose é acompanhada pelo consumo de moléculas de água (Batglini e Bosi, 1972).

Este parâmetro influencia a conservação do mel, a viscosidade, palatabilidade, sabor, peso específico, solubilidade e valor comercial.

O seu teor condiciona a cristalização, e indirectamente a fermentação, pois a granulação aumenta o conteúdo de água superficial, o que facilita o ataque bacteriano.

As abelhas normalmente operculam os alvéolos com mel, quando este atinge cerca de 17 a 18% de humidade. Este valor não é absoluto, podendo mesmo acontecer, que o mel não operculado apresente valores de humidade inferiores ao mel operculado (Gonnet, 1980).

De acordo com Andrade (1995), os méis de *Ericaceae* e de *Papilionaceae* (*Trifolium* sp.) apresentam valores superiores em água.

A legislação Portuguesa (NP – 1307, Port.n°449/76), seguindo as indicações do Codex Alimentarius Commission (1968), permite como teor máximo de água no mel **20%**.



#### **1.4.2. – Substâncias insolúveis**

As substâncias insolúveis na água presentes no mel compreendem as partículas de cera suspensa, partes de insectos e vegetais, e grãos de pólen.

O Codex Alimentarius Commission estabelece um teor máximo de **0,5%** para méis espremidos e de **0,1%** para méis obtidos por centrifugação.

Alguns dos elementos acima referidos são provenientes do material utilizado pelas abelhas no fabrico do mel, e outras resultam da acção do apicultor.

O aparecimento de grãos de amido e restos de vegetais, em quantidades consideráveis, indica o uso de substitutos na alimentação das abelhas, tais como cozimentos de plantas ou açúcares misturados com farinhas.

A presença de quitina, tecidos de abelhas adultas e larvas, e ainda fibras têxteis, é devida à utilização de meios primitivos na extracção do mel.

Ocasionalmente, podem aparecer no mel hifas e esporos de fungos associados às abelhas (ex., *Perystis alvei*), ou fungos patogénicos associados às plantas (tais como *Uredinaceae*, *Ustilaginacea*) (Sancho, 1990).

### 1.4.3- Índice Diastásico (ID)

Uma das características que distinguem o mel dos outros edulcorantes é a presença de enzimas, as quais do ponto de vista alimentar, não têm valor, mas são importantes indicadores de qualidade, identidade e resposta ao calor e armazenamento do mel

As enzimas desempenham um papel fundamental na produção de mel: a transformação de néctar ou melada em mel pode ocorrer apenas devido à acção de certas enzimas presentes nas secreções glandulares das abelhas (Sancho 1990).

O índice diastásico é uma medida da actividade enzimática da diastase, normalmente expressa na escala de Gothe (FAO/OMS).

A diastase é extremamente sensível ao calor, a sua actividade diminui progressivamente durante o armazenamento, ou então bruscamente com elevados aquecimentos e com aquecimentos moderados mas prolongados. Por conseguinte, o conhecimento do índice diastásico, assim como o hidroximetilfurfural (HMF) é usado como indicador de qualidade e parâmetro de envelhecimento (Crane 1979 e 1990).

O valor mínimo permitido pela legislação para o índice diastásico é de **8** (na escala de Gothe).

Em méis com um conteúdo natural fraco em enzimas, como méis de *Citrus* sp. e de *Eucalyptus globulus* L., o valor mínimo estabelecido é de **3** (na escala de Gothe), sempre que o seu conteúdo em hidroximetilfurfural seja menor a **15** mg/kg de mel.

O mel contém outras enzimas: glucose-oxidase; invertase; catalase e fosfatase.

A glucose-oxidase, tal como a invertase e a diastase, também contribuem para a elaboração do mel na colmeia. Nos méis muito densos é virtualmente desactivada, em mel diluído oxida a glucose, transformando-a em ácido glucónico e peróxido de hidrogénio. É sensível à luz e ao calor (White, 1987).

### 1.4.4 – Açúcares

Os açúcares são os compostos maioritários do mel, representando cerca de 95-99% dos constituintes sólidos deste produto. Estes componentes conferem ao mel numerosas propriedades físico-químicas, as quais se destacam: poder rotatório, viscosidade, higroscopicidade e tendência para granulação. Por outro lado, as propriedades antibacterianas do mel dependem da elevada concentração de açúcares (Crane, 1979).

A frutose, glucose e a maltose são os principais açúcares no mel (Figura 10), seguindo-se a sacarose, erlose, melizitose, em quantidades pequenas.

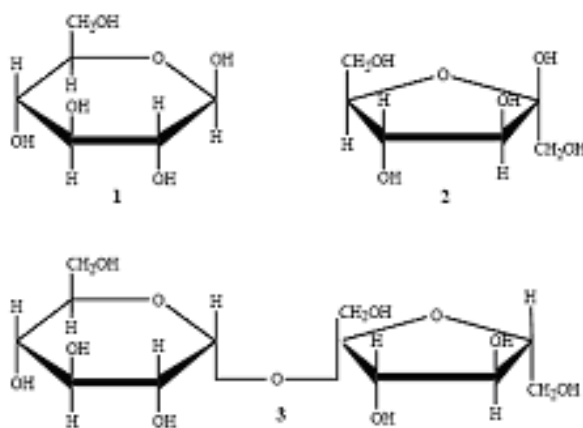


Figura 10 – Açúcares mais representativos no mel: 1 – glucose; 2 – frutose; 3 – sacarose, (Andrade, 1995).

De acordo com Andrade (1995) a origem botânica é o factor que mais influencia a composição de açúcares do mel; a área geográfica e o clima têm normalmente uma menor influência.

O mel de melada é caracterizado por conteúdos de glucose e frutose inferiores aos apresentados pelo mel floral e uma percentagem superior de dissacáridos redutores e outros oligossacáridos superiores. O elevado teor de melizitose é também uma característica do mel de melada.

As diferenças no conteúdo em açúcares destes dois tipos de mel, resultam numa rotação óptica distinta: os méis florais são levo-rotatórios e os de melada dextro-rotatórios.

Tabela 1- Açúcares presentes no mel, (Andrade, 1995)

Monossacáridos	Dissacáridos	Trissacáridos	Oligossacáridos
Glucose	Maltose	Erlose	Isomaltotetraose
Frutose	Kojibiose	Teanderoose	Isomaltopentose
	Turanose	Panose	
	Isomaltose	Maltotriose	
	Sacarose	1-Cestose	
	Maltulose	Isomaltotriose	
	Nigerose	Melizitose	
	$\alpha,\beta$ Trealose	Isopanose	
	Genciobiose	Centose	
	Laminaribiose	3- $\alpha$ -Isomaltosil- glucose	
	Isomaltulose	Rafinose	
	Melibiose		

#### 1.4.4.1 - Formação e metabolismo de açúcares

Na determinação da origem dos oligossacáridos no mel, é importante o conhecimento da composição em açúcares do néctar e a extensão das alterações desta composição, originadas pelas enzimas do néctar e incorporadas pelas abelhas (Andrade, 1995).

Low et *al.* (1988) considera que os oligossacáridos presentes nos méis, provêm essencialmente da actuação das enzimas que as abelhas adicionam ao néctar, pois méis de diferente origem floral apresentam um conteúdo oligossacárido semelhante.

A composição em açúcares não é estável ao longo do tempo, o mel armazenado modifica-se na direcção de um incremento da sua complexidade (White, 1987), com consequente redução do teor em glucose e frutose. Estas reacções são favorecidas pela acidez (Louveaux, 1985). O conteúdo em monossacáridos diminui cerca de 9% por ano, sendo convertidos em oligossacáridos. Considera-se que estes di e tri-sacáridos, se originam largamente na transglucosidação que acompanha a inversão pela invertase do mel, e pela reversão ácida. A transglucosidação faz com que a relação glucose/frutose

seja modificada, pois uma boa parte da glucose é consumida no processo. Este é o motivo pelo qual o mel contém normalmente mais frutose do que glucose.

Segundo Andrade (1995), o pH ácido, a elevada concentração de açúcar no mel e um longo intervalo de tempo, favorecem a reversão dos açúcares.

Na formação dos oligossacáridos ocorre a trans-D-glucosilação e a trans-D-frutosilação. Neste processo, os grupos D-glucopiranosil são transferidos de um dador de D-glucopiranosil para uma molécula receptora, que pode ser um mono, oligo, ou polissacárido. Os oligossacáridos que contêm D-frutose resultam da transferência de grupos D-frutofuranosil para outros açúcares. Estas reacções de transferência ocorrem provavelmente através da formação de complexos D-frutofuranosil-enzima e D-glucopiranosil-enzima (Siddiqui, 1970).

A invertase, a enzima mais importante do mel proveniente das abelhas, actua sobre a sacarose produzindo vários oligossacáridos os quais, por acção prolongada da enzima, são eventualmente hidrolisados em glucose e frutose. Dos oligossacáridos produzidos, o maioritário é a erlose. Este açúcar pode ser visto como o resultado da transferência de glucose de uma molécula de sacarose, para o 4-hidroxilo da glucose de uma molécula de sacarose intacta.

Devido à capacidade de transferir glucose, a invertase do mel é considerada uma  $\alpha$ -glucosidase ou glucoinvertase. Esta enzima difere da invertase das leveduras, a qual é uma frutoinvertase, que transfere a frutose para uma molécula receptora. O facto da relação frutose/glucose ser maior que um, pode ser explicado pela transferência da glucose para dissacáridos receptores (Crane, 1979).

#### **1.4.5 –Hidroximetilfurfural**

O mel contém normalmente hidroximetilfurfural - 2-hidroximetil- 5 – furaldeído (HMF) em pequenas quantidades, sendo esta substância formada pela desidratação ácido catalase das hexoses, principalmente da frutose, sendo o seu teor influenciado principalmente pela temperatura, luminosidade, pH e tempo de armazenamento ou processamento (White et *al.*, 1964).

Segundo White (1982), quanto mais ácido for o mel, mais sensível se torna à formação de HMF.

A formação do HMF conduz ao escurecimento do mel e à perda do seu aroma e sabor (Sancho, 1990).

O teor em HMF é normalmente usado como parâmetro de qualidade e envelhecimento do mel, pois quer o aquecimento, a idade e a adição de xaropes de açúcar aumentam este parâmetro.

De acordo com Ferreira (1988) o hidroximetilfurfural é o parâmetro que se revela mais útil para evidenciar a perda de qualidade do mel. Este autor verificou um aumento médio de 1,2 mg/kg por mês à temperatura ambiente e à luz natural, para um mel de eucalipto.

Segundo a legislação Portuguesa (NP – 1307; Port nº 449/76) o seu valor não pode ser superior a **40 mg/kg** de mel.

#### **1.4.6 – Cinzas**

O conteúdo mineral do mel está relacionado com a sua origem (néctar ou melada) e condiciona a condutividade eléctrica. A elevada correlação entre este parâmetro e a percentagem de cinza, encontrada por vários autores, nomeadamente Sancho *et al.* (1992), sugerem ser um método alternativo à determinação deste parâmetro por calcinação.

A concentração das cinzas solúveis, insolúveis, cinzas sulfatadas e a alcalinidade das cinzas (solúveis, insolúveis e totais), são importantes para o conhecimento do conteúdo mineral (Crane, 1979).

O teor em cinzas solúveis dá-nos indicação sobre a presença de óxido alcalinos e alcalino-terrosos. A determinação das cinzas insolúveis dá-nos informações sobre a matéria siliciosa presentes nas cinzas, e finalmente, a alcalinidade das cinzas reflecte a presença de catiões combinados com ácidos orgânicos.

A percentagem de cinzas, e consequentemente a condutividade eléctrica, está correlacionado com os factores climáticos. Assim quanto maior a precipitação maior a percentagem de cinzas e condutividade eléctrica, passando-se o contrário com a temperatura (Sancho, 1990).

A NP – 1307, Port. Nº449/76, tal como o Codex Alimentarius Commission (1969) estabelecem os sais minerais como teor de cinza, o qual deve apresentar um teor máximo de **0,6%** para o mel de néctar e de **1%** para o mel de melada.

Os valores elevados de cinza no mel podem ser indicativos de alguma falta de higiene, nomeadamente, conspurcação com terra.

O conteúdo mineral influencia a cor e aroma do mel, tendo os méis com maior teor de cinzas uma cor mais escura e um forte sabor, pois este é influenciado pela alcalinidade natural dos componentes minerais.

#### **1.4.7 – pH e acidez**

O pH indica a acidez actual do mel, a qual protege o mel dos ataques microbianos, influenciando portanto a sua conservação.

Os méis ricos em sais minerais, principalmente em potássio, sódio e cálcio, normalmente têm o pH mais elevado (Crane, 1990).

Em méis florais o pH encontra-se entre **3,2-4,5**, com uma média de 3,9 enquanto que nos méis de melada o pH pode atingir o valor de **5,5**.

A acidez depende de vários factores, nomeadamente da origem do mel, a sua determinação permite verificar a fermentação, pois neste caso a acidez aumenta consideravelmente devido à conversão do álcool produzido em ácido acético, por acção bacteriana (Sancho, 1990).

A presença de ácidos no mel tem, segundo Barbier e Pangaug (1961), citado por Andrade (1995), duas origens: botânica e enzimática – as abelhas têm a possibilidade de provocar no mel a formação de ácidos.

Segundo Moreira (2001), a acidez do mel está fortemente associado ao monossacárido D-glucose, este monossacárido é convertido através da acção da enzima D-glucose oxidase, no ácido glucónico, com libertação de peróxido de hidrogénio, que, em conjunto com a acidez, é essencial para preservar o néctar contra fermentações. Este ácido constitui 70 a 90% dos ácidos orgânicos do mel.

No estudo da acidez distinguem-se vários tipos: a acidez real ou pH, a acidez livre, a acidez lactónica e a acidez total. A acidez livre é a parte da acidez que não se encontra combinada com lactonas (acidez lactónica), portanto livre em solução. A soma da acidez livre e lactónica dá a acidez total.

Hadorn e Zurcher (1963), citado por Andrade (1995), sugeriram um valor máximo de acidez livre de **40** meq/kg de mel, para que uma amostra pudesse ser

comercializada, valor que foi adoptado pelo Codex Alimentarius Commission (1968) e pela Legislação Portuguesa.

A relação acidez lactónica/acidez livre fornece informações sobre a origem do mel. Este parâmetro apresenta um valor médio de **0,335** para méis de néctar, enquanto que para méis de melada o valor médio é inferior, cerca de **0,127** (White, 1979).

#### **1.4.8 – Índice de Formol**

O Índice de Formol (IF) permite a avaliação dos aminoácidos livres e da pequena proporção de proteínas. Este valor situa-se entre **0,45-1,55 meq/100 g** de mel, e através dele pode-se comprovar a qualidade do mel. Um valor de índice de formol inferior a 0,45 meq/100g de mel indica a falsificação do mel com composto açucarados ou a alimentação artificial das abelhas.

Um valor superior a 1,55 meq/100g de mel evidencia a alimentação artificial das abelhas com hidrolisados de proteínas.

A prolina é o aminoácido do mel mais representativo, seguindo-se a lisina, ácido glutâmico e ácido aspártico (Sancho, 1990).

A maior parte dos aminoácidos provêm da origem botânica; no entanto, uma parte significativa é adicionada pelas abelhas (Bergner and Hahn, 1972, citado por Bogadanov, 2004), o que leva a uma grande variabilidade de aminoácidos dentro dos méis de uma mesma fonte botânica.

O conteúdo de aminoácidos em méis monoflorais foi estudado por muitos investigadores: Berger e Hahn, 1972; Petrov, 1974; Bosi e Battaglini, 1978; Kenamatsu *et al.*, 1982).

Na maioria dos estudos efectuados, o espectro dos aminoácidos são semelhantes; no entanto, foram encontradas diferenças quantitativas significativas.

As pesquisas mais recentes apontam para uma boa relação entre o espectro dos ácidos aminados do mel e a sua origem geográfica.

Speer e Montang (1986), com a ajuda de troca iónica, analisaram méis de várias origens florais (dentes de leão, colza, acácia, tâsmanio e urze), avaliando o seu teor em aminoácidos livres. Nos resultados obtidos, o mel de urze apresentou o teor mais elevado em ácidos aminados livres.



### **1.5 – Novos parâmetros de avaliação de qualidade do mel**

As diferenças de aroma e sabor verificadas entre os méis, devem-se a um conjunto de substâncias, tais como açúcares, ácidos, aminoácidos, taninos e substâncias voláteis, entre as quais se encontra o etanol. O etanol é um álcool volátil, sendo um constituinte aromático do mel.

O etanol e a glicerina, fazem parte dos constituintes minoritários do mel, mas o seu valor pode aumentar com o decorrer do tempo, em virtude da fermentação do mel, pelo que podem constituir parâmetros de qualidade e avaliação do grau de envelhecimento do mel. A fermentação do mel é devida às leveduras osmofílicas (tolerantes aos açúcares e de baixo poder de fermentação), que podem provir do corpo da abelha, do chão da colmeia ou do material de extração do mel. As leveduras osmofílicas necessitam de certas condições para fermentar: temperatura de armazenamento adequado, granulação do mel, conteúdo de água alto e quantidades favoráveis de substâncias minerais e cinzas (Andrade, 1995).

Segundo Laub e Marx (1987) a glicerina é produzida por microorganismos existentes no néctar e melada que as abelhas recolhem, dependendo o seu teor da origem floral do mel. Na fermentação de uma solução de glucose a 20%, o arejamento e o baixo conteúdo em fosfatos, favorecem a produção de glicerina, enquanto que a fermentação anaeróbia produz principalmente etanol, em detrimento da glicerina.

## **1.6 – Compostos fenólicos no mel**

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários de plantas. Surgem essencialmente, na forma glicolisada ao nível das folhas, flores e frutos e outros tecidos de plantas, aparecendo na forma de agliconas em madeiras. Nas sementes podem surgir em ambas as formas.

Os compostos fenólicos existentes nos alimentos são geralmente ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas e taninos.

A nível químico podem ser definidos como substâncias que possuem pelo menos um anel, contendo um ou mais grupos hidroxilo, ou seus derivados funcionais.

No mel os compostos fenólicos mais representativos são os flavonóides e ácidos fenólicos, sendo utilizados como marcadores taxonómicos (Tomás-Barbérán, 1993).

### **1.6.1 - Flavonóides**

Muitas e variadas funções têm sido demonstradas e/ou propostas para os flavonóides nas plantas. Estas funções incluem:

- protecção das plantas contra radiação ultravioleta, insectos, vírus e bactérias;
- atracção de polinizadores, contribuindo para a polinização directa e cruzada;
- acção como anti-oxidantes;
- controle de hormonas de plantas;
- inibição de enzimas;
- acção como agentes aleloquímicos.

Os flavonóides são caracterizados pela presença de dois anéis aromáticos benzénicos ligados por uma cadeia com três átomos de carbono (que pode ou não formar um terceiro anel), com a estrutura geral de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Por conveniência designam-se os anéis por A, B e C e o sistema de numeração para a maioria dos flavonóides é o representado na Figura 11.

Os flavonóides apresentam uma parte da molécula (anel A) sintetizada “Via acetato” e outra parte (anéis B e C) sintetizada “via chiquimato”, os quais podem ser denominados compostos de biossíntese mista (Andrade, 1995).

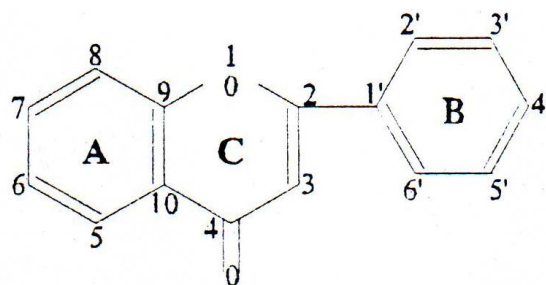
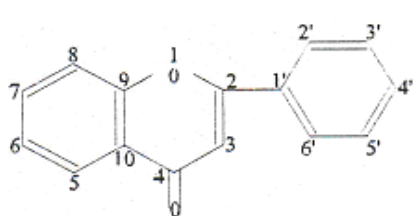


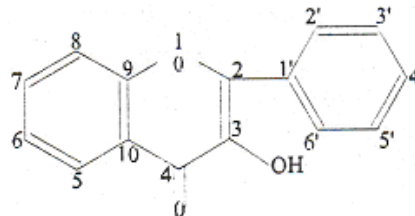
Figura 11 – Sistemas de numeração para a maioria dos flavonóides, (Andrade, 1995).

As diferentes classes de favonóides são caracterizadas pela natureza da cadeia de ligação de 3 átomos de carbono (Figura 12).

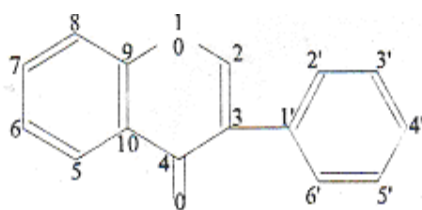
A variabilidade de estrutura encontrada nesta classe de compostos advém das posteriores modificações que poderão surgir, sendo as mais frequentes a glicosilação e a metilação dos hidroxilos presentes.



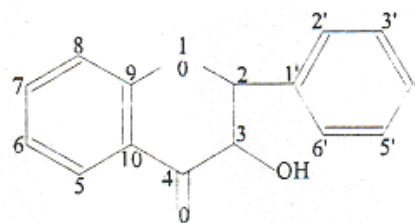
Flavonas



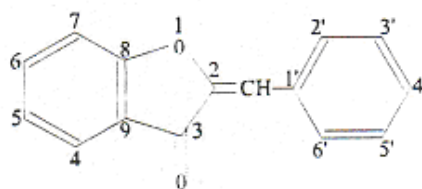
Flavonóis



Isoflavonas



Dihidroflavonóis



Auronas

Figura 12– Diferentes classes de flavonóides, (Andrade, 1995).

Os flavonóides presentes nos méis podem provir de três fontes vegetais: néctar (constituente maioritário do mel), pólen e própolis.

O conteúdo em flavonóides tem sido usado na diferenciação de pólenes de diferentes origens botânica. Isto sugere que os flavonóides do pólen presentes no mel, podem estar relacionados com a sua origem botânica. No entanto, os glicosídeos de flavonóides do pólen são hidrolisados pelas enzimas das abelhas presentes no mel, originando os flavonóides polihidrolisados: quercetina, campferol irosamnetina, os quais são frequentes e encontram-se presentes em quase todas as espécies, não podendo servir para determinar a origem botânica (Tomás-Barbérán et al., 1989). Andrade et al. (1994) em méis de *Erica* sp., identificou flavonóides comuns a todas as amostras de mel produzidas em áreas temperadas, provenientes da propolis/cera: pinobanksina, pinocembrina, crisina, galangina, tectocrisina, genkwanina, 3-O-metilquercina, 3,3'-O-dimetilquercetina, 7,3'-O-dimetilquercetina, 3,7-O-dimetilquercetina.

Na tabela 2 estão representados alguns dos flavonóides identificados por Andrade em méis de *Erica* sp..

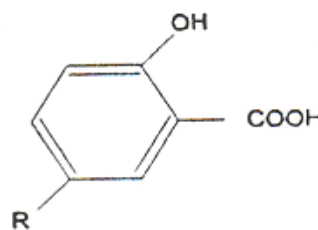
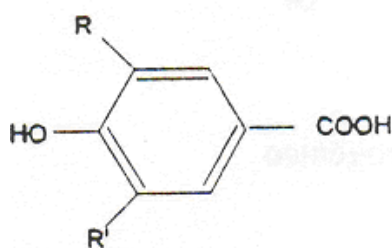
Tabela 2– Flavonóides das amostras de mel de *Erica* sp., (Andrade, 1995).

Flavonóides	Estrutura	Origem Vegetal
Pinobanksina	3,5,7 – Trihidroxiflavonona	Propólis-cera
Quercetina	3,5,7,3',4' – Pentahidroxiflavona	Pólen-nectar
3'-O-Metilmiricetina	3,5,7,4',5'–Pentahidroxi-3'-metoxiflavona	Pólen-nectar
Luteolina	5,7,3',4 – Tetrahidroxiflavona	Pólen-nectar
3-O- Metilquercetina	5,7,3',4' – Tetrahidroxi-3-metoxiflavona	Propólis-cera
8-Metoxicampferol	3,5,7,4' - Tetrahidroxi-8-metoxiflavona	Pólen-nectar
campferol	3,5,7,4' – Tetrahidroxiflavona	Pólen-nectar
Apigenina	5,7,4' – Trihidroxiflavona	Pólen-nectar
Isoramnetina	3, 5,7,4' – Tetrahidroxi-3' metoxiflavona	Pólen-nectar
3,3'-O-dimetilquercetina	5,7,4'-Tihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona	Propólis-cera
Pinocembrina	5,7 – Dihidroxiflavanona	Propólis-cera
7,3'-O-dimetilquercetina	3,5,4'-Trihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona	Propólis-cera
3,7-O-demetilquercetina	5,3',4' – Trihidroxi-3,7-dimetoxiflavona	Propólis-cera
Crisina	5,7 – Dihidroxiflavona	Propólis-cera
Galangina	3,5,7 – Trihidroxiflavona	Propólis-cera
Genkwanina	5,4'-Dihidroxi-7-metoxiflavona	Propólis-cera
Tectocrisina	5-hidroxi-7-metoxiflavona	Propólis-cera

### 1.6.2 - Ácidos fenólicos

A denominação geral de ácidos fenólicos inclui os ácidos benzóicos com sete átomos de carbono (C6-C1) e os ácidos cinâmicos com nove átomos de carbono (C6-C3) (Figura 13).

Os ácidos fenólicos encontram-se na natureza sob a forma de combinações, do tipo éster ou sob a forma de glicósidos. O ácido clorogénico, éster do ácido cafeico e do ácido quinico, é a combinação mais clássica (Ribéreau-Gayon, 1968).



R=R'=H; Ácido p-hidroxibenzóico

R=OH, R'=H; Ácido protocatéquico

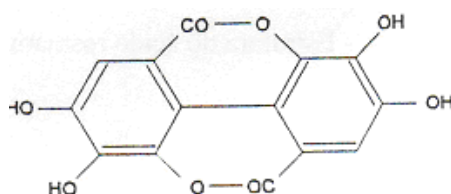
R=OCH<sub>3</sub>, R'=H; Ácido vanílico

R=R'=OH; Ácido gálhico

R=R'=OCH<sub>3</sub>; Ácido siringico

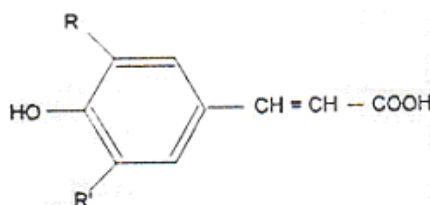
R=H; Ácido salicílico (o-hidroxibenzóico)

R=OH; Ácido gentísico



Ácido elágico

Figura 13 – Estruturas dos principais ácidos benzóicos, (Ribéreau-Gayon, 1968).



R=R'=H; Ácido p-cumárico

R=OH, R'=H; Ácido cafeico

R=OCH<sub>3</sub>, R'=H; Ácido ferúlico

R=R'=OCH<sub>3</sub>; Ácido sinápico

Figura 14 – Estruturas dos principais ácidos cinâmicos, (Ribéreau-Gayon, 1968).

Alguns ácidos fenólicos são considerados marcadores taxonômicos de méis, como é o caso do éster do ácido cafeico e do ácido 3,4 – dhidroxifenilático, que é considerado marcador taxonômico das *Laminaceae*.

Os ácidos cinâmicos e os seus derivados naturais, como possuem uma dupla ligação, podem existir sob duas formas isómeras, *trans* e *cis*. Os ácidos cinâmicos naturais são os *trans*, pois são os mais estáveis; no entanto, os dois isômeros podem converter-se um no outro, estabelecendo-se um equilíbrio (Ribéreau-Gayon, 1968).

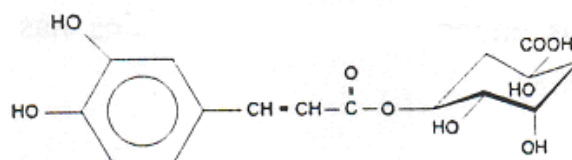


Figura 15 – Estrutura do ácido clorogénico, (Andrade, 1995).

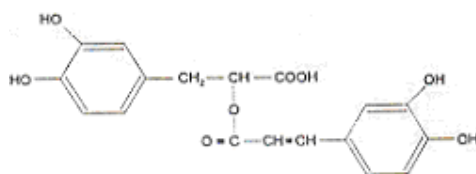


Figura 16 – Estrutura do ácido rosmarínico, (Andrade, 1995).

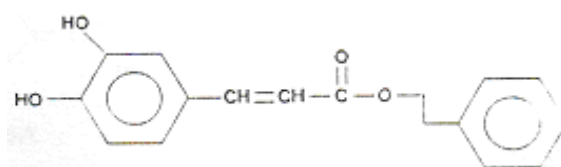


Figura 17 – Estrutura do ácidos feniletilcafecto, (Andrade, 1995).

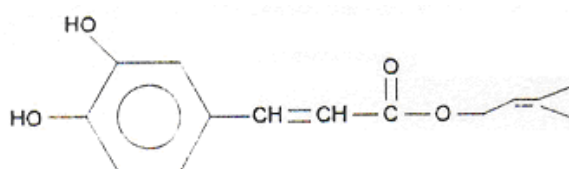


Figura 18 – Estrutura do dimetilalilfecto, (Andrade, 1995).

### 1.7 - Propriedades antioxidantes do mel

Até a data, existem evidências preponderantes que indicam que os radicais livres causam doenças oxidativas aos lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, onde o oxigénio activo como o O<sub>2</sub>, OH ou radical péroxido de hidrogénio podem levar a diversas complicações biológicas, como o cancro, doenças cardiovasculares e inflamações.

A maioria destes radicais livres são, geralmente, eliminados, de várias formas, através dos antioxidantes: estes, com capacidade para doar radicais de hidrogénio, reduzem os níveis de radicais primários.

Os antioxidantes podem ser de dois tipos: primários (terminais de cadeia) ou secundários (preventivos). Os primeiros, mesmo presentes em quantidades vestigiais, podem reagir com radicais antes de estes reagirem com biomoléculas, convertendo-os em produtos estáveis. Os antioxidantes secundários são compostos que retardam a taxa de iniciação através de outros mecanismos que não as vias seguidas pelos antioxidantes primários. Estes compostos são, por exemplo, responsáveis pela redução da taxa de auto-oxidação lípida por processos que envolvem a ligação a iões metálicos, capturando oxigénio atmosférico.

Dentro dos antioxidantes mais conhecidos temos os compostos fenólicos (flavonóides e ácidos fenólicos), compostos aminados (aminoácidos, amins, alcalóides) e ácido ascórbico.

Nos últimos anos têm sido realizados estudos para determinação da actividade antioxidante no mel, demonstrando que o mel não é apenas um alimento de alto valor nutritivo mas também uma fonte riquíssima de antioxidantes (Beretta et al., 2005).

Al-Mamary et al. (2002) ao estudar os compostos fenólicos e actividade antioxidante de diferentes méis, verificaram que existe uma correlação positiva entre a actividade antioxidante e os compostos fenólicos.

No estudo de méis espanhóis de *Rosmanarinus officinalis* L., Ferreres et al. (1991 e 1994) e Tomás-Barbéran et al. (1993) isolaram 20 flavonóides, entre os quais, campferol, quercina, galangina, luteolina, 3-metil-*O*-quercetina, 8-metoxikaempferol, 3-metil-*O*-campferol; 3,3'-dimetil-*O*-quercetina, 7-metil-*O*-luteolina, 3,7 – dimetil-*O*-quercetina, genkwanina e eriodictiol; as flavonas crisina e tectocrisina e as flavononas pinocembrina e pinobanksina.



### **1.8 - Actividade antimicrobiana do mel**

Segundo Molan (1992) existem vários relatos na literatura médica relativos à utilização do mel com poder curativo sobre as feridas, queimaduras e úlceras da pele: a inflamação, a tumefação e a dor são rapidamente reduzidas.

Com base nestas observações são diversos os investigadores que, actualmente, desenvolvem trabalhos sobre as potencialidades e interesse terapêutico do mel, desde o tratamento de renites alérgicas, à actividade como hepatoprotector.

São inúmeras as características do mel que contribuem para a sua actividade antibacteriana. A reacção enzimática de oxidação da glucose e algumas das suas propriedades físicas são considerados os factores principais. Outros factores incluem:

- pressão osmótica alta;
- baixa actividade água;
- baixo pH/ambiente ácido;
- baixo conteúdo em proteínas;
- relação C/N alta;
- baixo potencial redox devido ao elevado teor em açúcares redutores.

A glucose oxidase é uma enzima segregada pelas abelhas que transforma o néctar em mel. Na presença de água e oxigénio converte a glucose em ácido glucónico e peróxido de hidrogénio. A acidez resultante e o peróxido de hidrogénio esterilizam o mel durante o processo de amadurecimento.

O sistema gerador de peróxido de hidrogénio não é o único responsável por toda a actividade antibacteriana. Em méis provenientes da Nova Zelândia foram identificados dois compostos com propriedades antimicrobianas: metil 4-hidroxi-3,5-dimetilbenzoato e metil 3,4,5 – trimetoxibenzoato.

Em méis de diferentes zonas de Espanha foram identificados vários flavonóides com actividade antimicrobiana, nomeadamente: pinocembri, campferol, quercetina, naringina.

A presença de iões metálicos, de ácido ascórbico e de catalase provenientes do néctar podem destruir o peróxido de hidrogénio, reduzindo desta forma a sua propriedade antibacteriana (Mohamed, 2002).

### **1.9 – Métodos para determinação da origem botânica e geográfica**

A caracterização de méis monoflorais foi iniciado na Europa de forma a responder às exigências dos consumidores, não só a nível de qualidade mas também para garantia de certificação geográfica e botânica.

Tradicionalmente, a determinação da origem floral dos méis é realizada pela análise polínica, organoléptica e físico-química. Estes métodos são morosos e requerem pessoal especializado e com experiência.

O controlo de méis monoflorais requer a determinação de parâmetros que inequivocamente possam estabelecer a origem botânica e geográfica, e melhorem a caracterização do mel.

Alguns méis monoflorais têm propriedades químicas ou físicas, as quais podem confirmar os resultados da análise microscópica. Por exemplo o monoterpeno de metilo: metil antranilato é um bom marcador botânico do mel de *Cytrus* (Bogdanov, 2000).

Nos últimos anos têm sido feito um esforço notório na utilização de métodos alternativos mais simples e rápidos para determinação da origem botânica.

Dentro destes métodos temos a análise de ácidos fenólicos e flavonóides; análise de compostos voláteis; Infravermelho (IR) e análise quimiométrica (Tabela 3).

Alguns destes métodos são muito promissores, tais como a análise de compostos voláteis e IR.

Tabela 3 – Métodos para determinação da origem botânica do mel, (Bogdanov, 2004)

Métodos	Observações
<p><b>Método Clássico:</b></p> <p>Determinação de parâmetros clássicos de avaliação de qualidade do mel</p>	Utilizado em conjunto com análises polínicas e organolépticas
<p><b>Outros Métodos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Determinação de polifenóis por HPLC</li> </ul>	Mostra bons resultados, mas inadequado para métodos de rotina, devido a ser um método moroso
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Determinação de compostos voláteis</li> </ul>	Método promissor, o qual deverá ser melhorado no futuro para análise quantitativa de voláteis
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Aminoácidos</li> </ul>	Têm algum potencial discriminatório; no entanto, depende também da origem geográfica
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Elementos vestigiais</li> </ul>	Expressa algum poder discriminatório, dependendo também da origem geográfica e do clima
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Ácidos carboxílicos alifáticos</li> </ul>	Têm um poder discriminatório baixo, pois a maioria dos ácidos é adicionado ao mel pelas abelhas
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Espectroscopia de Infravermelho</li> </ul>	Método promissor e rápido, precisando de ser desenvolvido

### 1.9.1 – Ácidos fenólicos e polifenóis

Os flavonóides e ácidos fenólicos das plantas são geralmente considerados úteis como marcadores quimiotaxonômicos, a sua análise pode estabelecer a origem botânica e geográfica do mel (Amiot *et al.*, 1989; Tomás-Barbéran *et al.*, 1994; Andrade *et al.* 1994).

Na análise de oito méis franceses de diferentes origens botânicas, Amiot *et al.*, (1989) verificaram a existência de diferenças na sua composição fenólica, quer do ponto de vista qualitativo quer quantitativo. O mel de *Abies pectinata* foi o único a apresentar ácido vanílico, e o ácido sinápico foi encontrado no mel de *Lavandula hybrida* L.. O mel de *Arbustus unedo* L. apresentou um elevado teor de ácidos benzóicos em contraposição com o baixo valor verificado no mel de *Castanea sativa* Miller. Nos méis de *Lavandula hybrida* L., *Helianthus annuus* L., *Brassica napus* var. oleifera, *Robinia pseudo-Acacia* L., a proporção de ácidos fenólicos foi insignificante, verificando-se a preponderância de flavonóides. O mesmo autor verificou que os méis mais escuros contêm mais derivados de ácidos fenólicos, enquanto que os mais claros contêm mais flavonóides.

Andrade *et al.* (1994) diferenciaram méis portugueses de *Erica* sp. de méis de *Lavandula stoechas* L., com base na composição em ácidos fenólicos.

Os resultados obtidos por Andrade (1994), sugeriram a possibilidade dos ácidos fenólicos constituírem bons marcadores de origem botânica de méis monoflorais, quer no aspecto quantitativo quer no aspecto qualitativo.

O mesmo autor identificou a 3'-*O*-metilmiricetina e o ácido elágico, como os metabolitos mais interessantes como marcadores fenólicos da origem floral do mel de *Erica* sp., uma vez que não foram encontrados na maioria das amostras de mel monofloral analisadas até agora (mel de alecrim, girassol, citrinos, lavanda, eucalipto, amêndoa, castanha, acácia, tomilho, rododendro, amieiro, colza, abeto, etc), enquanto o campferol, a isoramnetina e a quercetina foram descritos em amostras de mel de distinta origem botânica.

De acordo com Andrade (1995) os flavonóides do néctar podem ser bons marcadores botânicos, enquanto que os flavonóides da própolis podem ser úteis como marcadores geográficos.

A análise de flavonóides no néctar de *Citrus* sp., realizada por Ferreres *et al.* (1993), revelou a presença da flavonona hesperidina (7-O-rutinosilhesperetina), principal fonte de hesperetina (5,7,3' – tihidroxyi-4' metoxiflavona).

Em estudos mais recentes, Tomas-Barberan *et al.* (2001) ao analisar 9 méis monoflorais, confirmou a hespertina como marcador do mel de *Cytrus* sp..

### **1.9.2 – Análise de compostos voláteis**

Os méis provenientes de origens botânicas diferentes possuem aroma e sabor característicos, os quais são utilizados pelos consumidores como um critério de selecção do produto no momento da compra.

Alguns autores defendem a análise de compostos voláteis para classificação dos méis monoflorais, pois estes diferem nas suas propriedades sensoriais.

Recentes estudos mostraram que a maioria dos compostos voláteis são provenientes das plantas, sendo alguns adicionados pelas abelhas (Cepurnoi, 2000; Alissandrakis *et al.*, 2003).

Até à presente data foram caracterizado 600 compostos voláteis em diferentes méis, sendo a maioria monoflorais.

O primeiro marcador volátil identificado foi o antranilato de metilo, encontrado em mel de *Cytrus* sp. (White, 1966).

### 1.9.3 - Análise de aminoácidos

A maior parte dos aminoácidos provém da origem botânica; contudo, uma parte significativa é adicionada pelas abelhas (Bergner e Hahn, 1972, citado por Bogadanov, 2004), o que leva a uma grande variabilidade de aminoácidos dentro dos méis de uma mesma fonte botânica.

Estudos efectuados por Davies e Harris, 1982, mostraram que é difícil caracterizar méis monoflorais com base na análise de aminoácidos; contudo, é possível distinguir méis de diferentes origens geográficas, foram encontradas diferenças quantitativas entre os diferentes aminoácidos.

Na maioria dos estudos efectuados, o espectro dos aminoácidos são semelhantes; no entanto, foram encontradas diferenças quantitativas significativas.

Speer e Montang (1986), utilizando troca iónica, analisaram méis de diferentes origens florais (dentes de leão, colza, acácia, tâsmanio e urze), avaliando o seu teor em aminoácidos livres. Nos resultados obtidos a soma dos ácidos aminados livres do mel de urze ultrapassou a dos outros méis analisados.

### 1.9.4 - Espectroscopia por Infravermelho (IR)

A espectroscopia de Infravermelho é baseada na absorção de radiação electromagnética a comprimentos de onda entre 12000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ : Infravermelho Próximo - 12000 ao 4000  $\text{cm}^{-1}$ , e o Infravermelho Médio vai de 4000 ao 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Este método é utilizado em diversas áreas na indústria alimentar, tendo também aplicação clínica; recentemente tem sido utilizado, com sucesso, para análise quantitativa do mel.

Alguns autores (Cho and Hong, 1998; Qui et al., 1999; Garcia Alvarez et al., 2000) mostraram ser possível utilizar o NIR para uma determinação rápida da maioria dos componentes do mel, nomeadamente, quantificar a frutose, glucose, sacarose, maltose e a humidade do mel. Não sendo possível a quantificação fiável de alguns açúcares minoritários, humidade, prolina, invertase, acidez livre, lactona e HMF.

O Infravermelho Médio MIR (400-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) tem sido aplicado com sucesso na determinação da frutose, glucose, sacarose, maltose, erlose, conductividade eléctrica,

pH e acidez livre, sendo mais difícil a determinação da humidade, prolina, HMF e invertase.

Este método está dependente da calibração entre os espectros e os resultados obtidos por métodos analíticos físico-químicos. Desta forma, compreende-se que seja um método moroso, dependendo a sua fiabilidade do número de amostras analisadas.

Antes de aplicar o método de infravermelho, a validade da calibração deve ser testada por comparação com métodos referenciais, e adaptada se necessário.

A utilização da espectroscopia de Infravermelho (IR) em méis monoflorais e multiflorais, e subsequente análise estatística por PCA e LDA, permite a classificação de méis monoflorais. Com a vantagem que a determinação da origem botânica pode ser determinada simultaneamente com as análises químicas de rotina (Qui, 1999).

Posto isto, compreende-se que, tratando-se de um método recente na quantificação de parâmetros de qualidade de mel, será necessário que seja validado para o maior número possível de tipos de méis, antes de introduzir o IR como um método oficial internacional.

### **1.9.5 - Análise Quimiométrica**

Normalmente, existem dois tipos de métodos para determinação da origem botânica. O primeiro método é baseado na identificação e quantificação de parâmetros específicos de méis monoflorais (marcadores botânicos); no segundo método, primeiro determina-se os diferentes parâmetros de qualidade e posteriormente é aplicado a análise quimiométrica para caracterização dos méis.

O primeiro método é mais fácil e fiável; no entanto, devido à diversidade dos constituintes do mel, nem sempre é possível encontrar marcadores específicos para cada tipo de mel e definir os limites precisos entre méis monoflorais e multiflorais. O segundo método utiliza modelos estatísticos para classificação de tipos de méis.

A aplicação deste método em trabalhos futuros de rotina necessita de modelos estatísticos, os quais são baseados em análises de um número representativo de amostras de mel monofloral. Desta forma, as técnicas quimiométricas poderão ser harmonizadas para as análises de rotina.

A Análise Multivariada pode ser aplicada de forma a encontrar tendências ou correlações entre os dados, ou para estabelecer a combinação de parâmetros, os quais estão altamente relacionados com o objectivo pretendido para a caracterização do mel.

É impossível classificar méis monoflorais só com parâmetros clássicos de avaliação da qualidade do mel; no entanto, utilizando métodos estatísticos como PCA (Análise por Componentes Principais), Análise Discriminante Linear (LDA) e análise de clusters (CA) nos diferentes parâmetros de qualidade (açúcares, condutividade eléctrica, rotação óptica, acidez, prolina) pode-se conseguir uma boa classificação de méis monoflorais (Bogadanov, 2004).

Utilizando IR em diferentes méis monoflorais e a consequente análise estatística por PCA, e LDA ou CA é possível classificar méis quanto à sua origem botânica (Qui, 1999).

A análise quimiométrica permite uma boa separação entre alguns méis monoflorais; contudo, não permite uma discriminação entre méis monoflorais e mutiflorais.

A vantagem deste método é que permite uma classificação do mel após controlo qualitativo normal.



### 1.10– Análise microscópica do mel

A análise microscópica do mel consiste na identificação e contagem de componentes figurados que se encontram em suspensão no mel: grãos de pólen, elementos indicadores de melada e impurezas no mel (Terradillos, 1989).

O pólen é o elemento germinal masculino das plantas fanerogâmicas. Encontra-se em forma pulverulenta nas anteras florais situadas na parte terminal dos estames das flores (Figura 19).

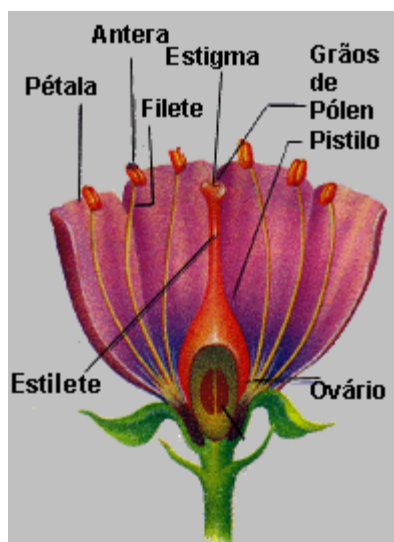


Figura 19- Corte transversal de uma flor ([www.google](http://www.google.com)).

Os grãos de pólen existentes no mel provêm essencialmente dos que caem das anteras sobre o néctar libado pelas abelhas. Existem também, outras vias indirectas, como são os que aderem ao corpo dos insectos ou aqueles que provêm da queda de grãos de pólen atmosféricos sobre nectários ao ar livre, podendo ainda o próprio apicultor fazer a sua contaminação durante a cresta, caso as condições não sejam as ideais.

Por vezes as plantas que fornecem o pólen e a melada não são as mesmas que fornecem o néctar. Assim os géneros *Cistus*; *Papver* e *Quercus* produzem grande quantidade de pólen, mas são desprovidos de néctar produzindo também melada (Louveaux, 1980).

As coníferas não possuem nectários, sendo o pólen pouco atractivo para as abelhas, contudo são importantes produtoras de melada.

A identificação e contagem dos pólenes permite (Sancho, 1990):

- Identificar as plantas visitadas pelas abelhas na recolha do néctar, permitindo, desta forma, o reconhecimento sobre a origem geográfica dos méis
- Distinguir méis monoflorais de méis multiflorais
- Verificar a veracidade da origem floral declarada nas embalagens do mel.

Um mel é considerado monofloral, se é produzido principalmente a partir de uma espécie vegetal, e se o pólen predominante está presente numa proporção igual ou superior a 45% (Sancho, 1990). No entanto, há casos em que a percentagem referida tem que ser corrigida, pois pode-se verificar uma subrepresentação de pólenes, pois há flores pobres em néctar ou que não permitem um bom contacto da abelha com o pólen. Como exemplos temos os méis de *Citrus* sp., *Lavandula* sp., *Rosmarinus* sp..

Pode também ocorrer casos de sobrerepresentação de pólen, como por exemplo méis de *Castanea sativa* Miller, em que estes méis só são considerados monoflorais se apresentarem uma percentagem de pólen igual ou superior a 90%.

No caso de não existir pólen predominante num mel, este é considerado de multifloral.

As frequências relativas (FR) são apresentadas do seguinte modo para cada tipo polínico, desde que sejam contados pelo menos 1200 grãos de pólen (Louveaux et al. 1978):

- Muito “frequente” para grãos de pólen que constituem mais de 45% do total
- “Frequente” para grãos de pólen que constituem 16-45% do total
- Raro para grãos de pólen que constituem 3-15% do total
- Esporádico para grãos de pólen que constituam menos de 3% do total
- Presente para grãos de pólen que constituem menos de 1% do total.

### 1.10.1 - Identificação dos grãos de pólen

O pólen possui uma membrana protectora de dissecação, formada por duas paredes, a mais interna é a íntima e a mais externa a exina (Figura 20). A exina é constituída essencialmente por esporolenina, cuja composição química não está totalmente conhecida, e a íntima que é constituída essencialmente por celulose, pectina, calose, polissacarídeos, enzimas e proteínas celulopectídicas (Dumas, 1984). A íntima destrói-se facilmente, desaparecendo totalmente quando o mel é acetolísado. A exina é resistente tanto à degradação química como biológica, que confere ao pólen as características microscópicas distintas que servem para a sua identificação.

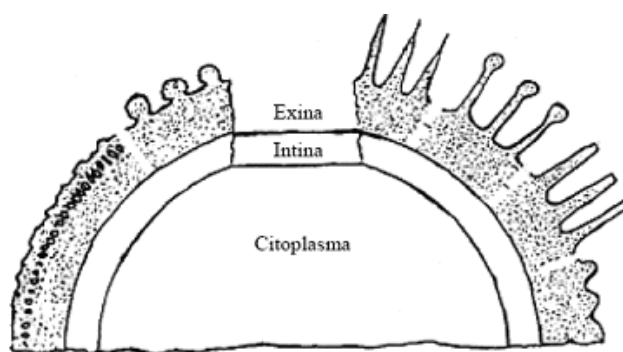


Figura 20 - Diversos aspectos possíveis da endosperme, (Andrade, 1995).

De acordo com Terradillos (1989), a caracterização dos grãos de pólen é-lhe conferida por:

1. forma
2. simetria
3. tamanho
4. ornamentação da exina
5. aspecto da exina, pelo aspecto focal
6. aberturas

Estas características, são mais ou menos análogas numa família, porém existem grãos de pólen pertencentes a famílias distintas com grandes semelhanças (Figura 21).

























Simétricos						Assimétricos
Rachais			Bilaterais			
Isopolares	V Equatorial	V Polar		V Equatorial	V Polar	
						
	  		 			
Heteropolares	V Equatorial	V Polar		V Equatorial	V Polar	
		Dorsal 	Proximal 		Dorsal 	Proximal 
	  		  			
Apolares						

Figura 21- Polaridade e simetria do grão de pólen, (Andrade, 1995).

### 1.10.2 - Tipos de análise polínica

A análise microscópica do mel pode ser expressa em análise polínica qualitativa, quantitativa e através do índice de melada. A análise polínica qualitativa ou espectro polínico, indica a proporção em que se encontram os grãos de pólen de distintas espécies ou tipos polínicos no mel. A análise quantitativa é interpretada através da quantidade de sedimento ou do número absoluto de elementos contidos no mel, isto é o número de grãos de pólen por grama de mel. Ambas as metodologias têm o mesmo objectivo, mas o processo de obter o resultado é diferente (Terradillos, 1989).

Os índices de melada podem classificar-se nas seguintes categorias:

- Insignificante (0-0,009)
- Baixo (0,1 -1,49)
- Médio (1,5-2,99)
- Elevado (3-4,99)
- Muito elevado (mais de 5)

O índice de melada permite-nos avaliar se o mel é de origem floral ou não.

O mel é classificado de melada quando o índice de melada é elevado, ou seja,

>3.

Os méis são classificados como monofloral, mutifloral ou mel de melada.

### 1.11 - Espectroscopia de FTIR

O espectro electromagnético está dividido em várias regiões: raios gama, raios X, ultra-violeta, visível, infra-vermelho, micro-ondas e radio-frequências.

Cada uma destas regiões, possui diferentes energias, que está relacionada com um tipo de transição atómica ou molecular. Desta forma, a radiação IR não provoca as mesmas transições electrónicas que as suas congéneres ultra-violeta, visível ou raios-X.

A radiação do Infravermelho não tem energia suficiente para provocar excitação dos electrões, conseguindo apenas alterar os estados vibracionais e rotacionais das moléculas, podendo ser usado como técnica espectroscópica não destrutiva (Kellner *et al.*, 1998).

A exploração da espectroscopia de FTIR tem uma série de vantagens: rapidez, aplicação de métodos quimiométricos, possibilidade de realizar análises não destrutivas e sem pré-tratamento das amostras.

A radiação no infra-vermelho é dividida em três tipos: IR longínquo, IR médio e IR próximo, sendo a mais popular e usada em química alimentar a do infravermelho médio (MIR).

A posição de absorção de uma banda no espectro pode ser expressa em microns ( $\mu\text{m}$ ) ou em comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) sendo esta mais comum. O intervalo usual de um espectro de infravermelho é entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  para as altas frequências e  $625\text{ cm}^{-1}$  para as baixas frequências (Lachenal, 2000).

De uma forma simples, pode-se dizer que, quando a frequência da radiação infra-vermelho emitida é igual à frequência vibracional da molécula, dá-se a absorção de energia por parte desta, resultando numa alteração da amplitude de vibração molecular. De forma semelhante ocorre para a rotação.

Para as moléculas absorverem energia na gama do infra-vermelho, tem de ocorrer uma alteração do momento de dipolo como consequência dos seus movimentos vibracional e rotacional.

A variação do momento dipolar com a alteração da distância interatómica durante a vibração, corresponde a um campo eléctrico oscilante que pode interagir com o campo eléctrico oscilante associado à radiação electromagnética.

Quanto maior a simetria da molécula, menor o número de bandas observadas, pois algumas ligações absorvem à mesma frequência.

A intensidade das bandas depende da natureza e da polaridade das ligações. Por exemplo, a ligação C=O, fortemente polar e composta de átomos diferentes, absorve fortemente, enquanto que a ligação C=C tem relativamente fraca absorção.

As moléculas com um mesmo grupo funcional apresentam, nos seus espectros, bandas sensivelmente à mesma frequência, independentemente da sua cadeia atômica principal, sendo esta absorção denominada frequência de grupo. Estas frequências encontram-se a números de onda superiores a  $1300\text{ cm}^{-1}$ .

A região  $1300\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  contém bandas vibracionais que são mais dificilmente atribuíveis a grupos funcionais específicos, uma vez que as massas e as forças de ligação de cada uma das espécies absorventes são muito similares. No entanto, esta região contém bandas com especial significado para a molécula como um todo, sendo denominada de região das impressões digitais. (Kellner et *al.*, 1998).

As bandas na região das frequências de grupo são facilmente identificáveis pelas tabelas; no entanto, as bandas na zona das impressões digitais devem-se por vezes a mais de uma ligação ou grupo funcional (Tabela 5).

Tabela 4-Regiões do infra-vermelho, (Pinto, 2002).

Região	Gama de comprimentos de onda ( $\lambda$ ), $\mu\text{m}$	Número de onda ( $\bar{\mu}$ ), $\text{cm}^{-1}$
Próximo	0.78 – 2.5	12800 - 4000
Médio	2.5 - 50	4000 - 400
Longínquo	50 – 1000	400 - 10

Tabela 5 - Algumas características das bandas na região do “fingerprint”

1500	1400	1300	1200	1100	1000	900	800	700	
									Alcanos
									OCOCH <sub>3</sub> e COCH <sub>3</sub>
									C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
									C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
									CH=CH trans
									Outros olefinicos C-H
									O-H
									C=O
									5-aromático adjacente C-H
									4-aromático adjacente C-H
									3-aromático adjacente C-H
									2-aromático adjacente C-H
									1-aromático isolado C-H
									C NO <sub>3</sub>
									O NO <sub>3</sub>
									N NO <sub>3</sub>
									N =O
									N O
									C=S
									CSNH
									SO
									SO <sub>2</sub>
									SO <sub>2</sub> N
									SO <sub>2</sub> O
									SO <sub>2</sub> Cl
									P O alquil
									P O aril
									P=O
									P
									Sr-CH <sub>3</sub>
									C-F
									C Cl



### 1.11.1 – O Espectrómetro de FTIR

A maioria dos interferómetros usados em espectroscopia de infravermelho são baseados no primeiro interferómetro originalmente desenhado por Michelson em 1981.

A fonte de radiação usada neste tipo de espectrómetros – Globar (SiC) - emite uma gama de comprimentos de onda que abrange toda a gama do infra-vermelho médio.

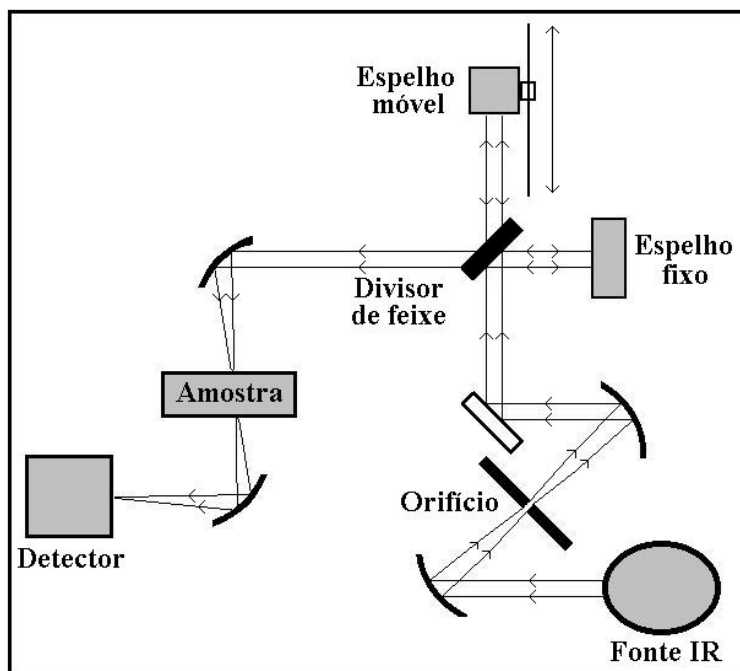


Figura 22 - Esquema de um interferómetro de Michelson, (Pinto, 2002).

Na Figura 22 pode-se observar o esquema de um interferómetro de Michelson.

A radiação enviada pela fonte passa por um orifício e interage com espelhos antes de chegar a um divisor de feixe. Aí, uma parte da radiação continua na mesma direcção, interagindo com um espelho em movimento, enquanto que a outra parte da radiação é reflectida para um espelho fixo. Posteriormente a radiação, em direcção contrária de ambos os espelhos, chega novamente ao divisor de feixe, sendo mais uma vez dividida, levando apenas uma parte a interferir com a amostra, reduzindo a amplitude de algumas frequências, e chegando então ao detector.

O espelho móvel pode mover-se de uma forma muito precisa e a uma velocidade determinada, de uma extremidade à outra do seu eixo. O movimento permite adquirir uma curva de intensidade da energia que chega ao detector em função do espaço percorrido pelo espelho - o interferograma. Tendo o interferograma médio, aplica-se a

transformada de Fourier, obtendo-se um espectro de transmitância em função da frequência. Este pode ainda ser facilmente convertido num espectro de absorvância em função da frequência (ou do número de onda).

O espectrómetro possui um detector piroeléctrico DTGS (sulfato de triglicina deuterado), que é termo-sensível, reagindo à alteração de temperatura provocada por uma radiação incidente. O espelho móvel permite codificar a quantidade de energia incidente através do uso da transformada de Fourier, permitindo a passagem do domínio do espaço-tempo para o domínio da frequência.

O espectro infravermelho representa a curva da intensidade transmitida em função do comprimento de onda, da frequência ou da energia da radiação incidente (Lachenal, 2000).

### 1.11.2 - Modos de aquisição dos espectros

Em espectroscopia FTIR as duas formas mais utilizadas de aquisição de espectros são a transmissão e a reflexão total atenuada (ATR).

Na técnica de transmissão, as amostras sólidas podem ser misturadas com KBr e prensadas, formando uma “pastilha” que pode ser atravessada pela radiação

Em amostras líquidas, estas são colocadas numa célula-contentor específica ou, em amostras mais viscosas, entre duas janelas de KBr.

Esta técnica tem o inconveniente da espessura da amostra, pois o feixe tem de atravessar completamente a amostra o que, de acordo com a lei de Beer-Lambert, diferentes espessuras implicam diferentes absorções de energia. Em ATR (Transmissão) a proporção de energia luminosa absorvida pelas moléculas é calculada a partir do conhecimento da radiação incidente e da radiação transmitida ao detector, pois a radiação reflectida é desprezável (Lachenal, 2000).

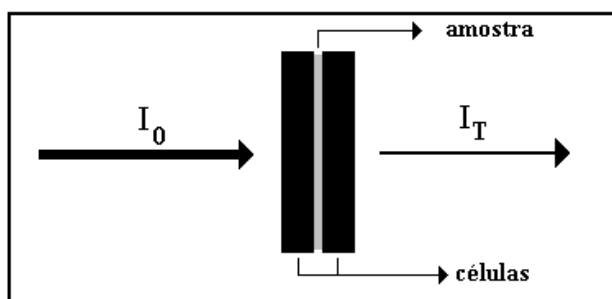


Figura 23 –Esquema de um possível dispositivo usado em Transmissão, (Pinto, 2002).

A técnica de ATR utiliza um cristal que ao desviar o feixe numa determinada direcção, este se reflecte consecutivamente na amostra e no cristal, fornecendo energia às moléculas em cada interacção com a amostra.

Este método é utilizado na análise de sólidos e de líquidos pouco ou muito viscosos.

Os modelos de cristais de ATR são vários, com especificidades diferentes; contudo, é o tamanho do cristal que vai determinar o número de interacções que o feixe tem com a amostra.

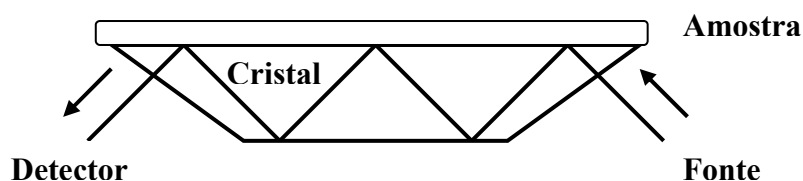


Figura 24 – Esquema de um dispositivo de ATR, Bertrand e Dufour, (2000).

### **1.11.3 - Análise Multivariada**

A interpretação dos dados em Análise Multivariada depende decisivamente do pré-processamento dos dados. Raramente os dados são usados na sua forma original.

Os dados obtidos através do FTIR são os espectros da amostra subtraídos de um espectro do fundo, de forma a retirar ao espectro da amostra a contribuição da célula e do meio ambiente. Cada espectro destes é representado por um vector, que consiste num conjunto de valores de transmitância (ou absorvância) observados a determinados comprimentos de onda para determinada amostra.

Os espectros são geralmente transformados antes da análise multivariada. As razões para estas transformações são várias; por exemplo: minimizar efeitos de linha de base, dar igual peso às variáveis, mover o sistema de coordenadas de forma a ter o centro em zero, maximizar diferenças entre os espectros, aumentar a resolução.

Os dados são normalmente apresentados de forma a que cada espectro seja uma linha de uma matriz de valores iniciais, sendo as colunas os diferentes comprimentos de onda (Brereton, 2000).

#### **1.11.3.1- Centrar**

Centrar consiste em subtrair a cada um dos valores do espectro (ou de uma variável) a respectiva média. Assim sendo, os dados centrados representam a diferença entre cada valor e a média do espectro (ou da variável), para que o baricentro fique na origem. Esta operação pode ser realizada antes ou depois de uma outra transformação. Centrar pode ser importante em alguns conjuntos de dados com problemas na linha de base ou quando se usa uma pequena região dos dados (Brereton, 2000).

### 1.11.3.2 - Padronizar

Esta operação consiste em dividir por cada um dos valores do vector o desvio padrão do mesmo. Matematicamente, se se pretende padronizar um vector, temos então, para cada valor  $i$  do vector  $\mathbf{x}$ :

$$x_{i\,pad} = \frac{x_i}{\sigma_x}$$

Pode ser aplicado a uma amostra ou a uma variável. Se aplicado às variáveis, atribui-lhes um peso semelhante, ou seja, todas as variáveis são reduzidas à mesma escala, o que é importante no caso de se querer anular diferenças grandes nas suas magnitudes. Quando aplicado às amostras, pode por exemplo, homogeneizar réplicas e ao mesmo tempo maximizar diferenças entre amostras. Brereton refere que deve ser usado após centrar os dados (Brereton, 2000).

### 1.11.3.3 – Derivar

As derivadas são realizadas por espectro (linha) e têm como função aumentar a resolução de bandas ou picos e reduzir a influência da linha de base (Brereton, 2000).

Um dos algoritmos usados para o cálculo das derivadas é o de Savitsky-Golay, que permite calcular derivadas e alisar os espectros (“smoothing”). Neste método, as derivadas são calculadas a nível local, pois é usada uma “janela” de valores vizinhos ao calculado, podendo ser usados diferentes tipos de aproximação polinomial (quadrática, cúbica, etc...) (Geladi, 2002).

Um exemplo do efeito da aplicação de derivadas a uma gaussiana pura é ilustrado na figura seguinte:

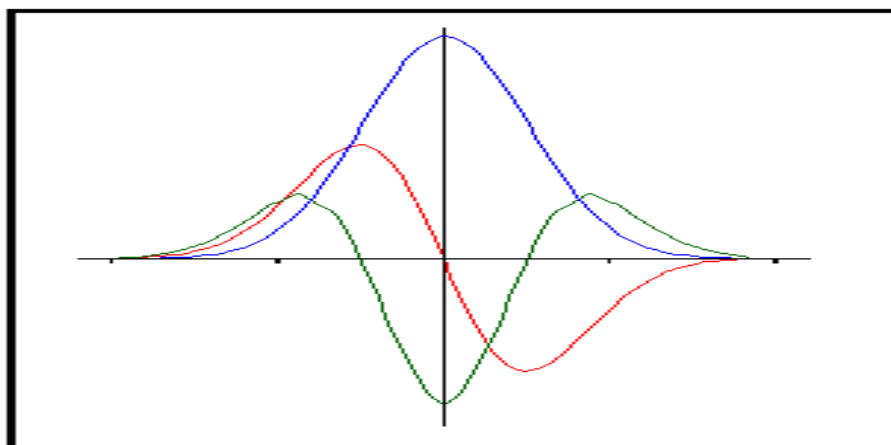


Figura 25 - Derivadas aplicadas a uma curva gaussiana, Pinto (2002).

--- curva gaussiana; --- 1ª derivada; --- 2ª derivada

A 1ª derivada é zero no centro do pico da curva gaussiana (declive da curva gaussiana igual a zero), sendo uma boa forma de determinar a posição de picos largos com maior exactidão. Apresenta ponto máximo e mínimo em cada um dos lados do pico (Geladi, 2002).

Se a curva gaussiana aumenta, a sua 1ª derivada é positiva. Da mesma forma, quando a gaussiana diminui, a 1ª derivada é negativa.

A 2ª derivada apresenta um valor mínimo no centro do pico e cruza o valor zero nos pontos máximo e mínimo da 1ª derivada.

#### 1.11.4 - Análise em Componentes Principais

A técnica de Análise em Componentes Principais (PCA), inicialmente descrita por Karl Pearson em 1901, recebeu contribuições matemáticas de Hotelling na década de 1930, mas teve de esperar pelo aparecimento dos computadores para ser largamente aplicada no domínio das ciências sociais, naturais e exactas, estabelecendo-se como uma peça base da Análise Multivariada.

Uma das razões para aplicar a Análise de Componentes Principais reside na quantidade enorme de dados produzidos pelos modernos equipamentos.

A abordagem de estudar cada um dos sinais (individualmente) e extrair as suas propriedades torna virtualmente impossível utilizar/analisar inteligentemente os dados. Por exemplo a análise de 300 objectos de ar onde 150 substâncias (variáveis) são quantificadas origina uma matriz de  $150 \times 300 = 45000$  elementos a analisar.

O PCA procura extrair as principais fontes de variabilidade de um conjunto de dados: relação entre amostras; descriptors (variáveis) e amostra/variáveis, através da factorização da matriz.

Como técnica exploratória, permite a visualização dos dados após a projecção das amostras no espaço multi-dimensional determinado pela factorização. Não sendo supervisionada, não se propõe nenhuma relação a priori entre os objectos e/ou as variáveis, procurando ela própria as relações entre os diferentes parâmetros (objectos e variáveis), permitindo observar eventuais agrupamentos entre objectos ou variáveis.

Geometricamente, pode ser compreendida como uma rotação/projecção dos eixos do espaço multivariado de uma matriz, de forma a maximizar a variação ao longo de cada eixo. Estes novos eixos são denominados componentes principais ou variáveis latentes.

Matematicamente, este processo consiste numa simples transformação linear de  $a$  variáveis de partida para criar  $k$  variáveis características das fontes de variabilidade dos dados (Manly, 1997).

As principais vantagens do PCA são:

- Facilita a extracção de informação;
- Auxilia a descrição de um modelo;
- Reduz o número de variáveis, através de uma combinação linear das variáveis originais;
- Método exploratório;
- Método de extracção das principais fontes de variabilidade.

#### 1.11.4.1 - Método PCA

A Análise de Componentes Principais (PCA) decompõe uma matriz  $\mathbf{X}$  em duas matrizes: uma de contribuições factoriais (pesos, ou “Loadings”)  $\mathbf{P}$  e outra de coordenadas factoriais (resultados, ou “Scores”)  $\mathbf{T}$ .

$$\mathbf{X} (n,a) = \mathbf{T} (n,k) \cdot \mathbf{P}' (k,a) + \mathbf{E} (n,a)$$

$$\boxed{\mathbf{X}} = \boxed{\mathbf{T}} \cdot \boxed{\mathbf{P}'} + \boxed{\mathbf{E}}$$

Figura 26 - Decomposição da matriz inicial na PCA, (Pinto, 2002).

A matriz de contribuições factoriais define o novo sistema de eixos e a de coordenadas factoriais representa a posição de cada amostra quando projectada nesse novo espaço vectorial.

As contribuições factoriais são obtidas para cada uma das variáveis (coluna) da matriz **X** e representam a relação entre as variáveis originais e os componentes principais.

As coordenadas factoriais são uma combinação linear das variáveis originais, ou por outras palavras, a projecção de cada amostra no espaço dos componentes principais. Estas podem ser obtidas para todos os objectos e em todos os componentes principais, da seguinte forma:

$$T(n,k) = X(n,a) \cdot P(a,k)$$

$$\boxed{T} = \boxed{X} \cdot \boxed{P}$$

Figura 27 - Projecções dos dados nos componentes principais, (Pinto, 2002).

Os gráficos das coordenadas factoriais podem mostrar relações entre as amostras, agrupando-as ou dispendo-as ao longo dos componentes principais.

A combinação dos gráficos de dispersão das coordenadas factoriais (Scores) com os das contribuições factoriais (loadings), correspondentes às mesmas dimensões, permite-nos analisar o comportamento das amostras com as variáveis que têm maior importância em cada componente principal. Estas dimensões são as que maximizam a variabilidade entre as amostras, devendo ser desprezadas as outras dimensões, que contêm apenas informação desinteressante proveniente do ruído, reduzindo-se a dimensionalidade dos dados.

A cada um dos componentes principais está associada uma percentagem de variância (Manly, 1997).



## **CAPÍTULO 2**

### **MATERIAL E MÉTODOS**

2.1 – Métodos Oficiais para determinação  
de parâmetros de qualidade do mel

2.2. Análise Multivariada

2.3. Análise por FTIR

## **2– MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 – Métodos Oficiais para determinação de parâmetros de qualidade do mel**

O estudo de tipificação do “Mel da Serra do Caramulo” iniciou-se em 1998, com a realização de análises físico-químicas, polínicas e organolépticas, e prolongou-se até 2002 (neste ano foram apenas realizadas as análises físico-químicas).

Com base nos dados destas análise, e recorrendo à Análise de Componentes Principais (PCA), procurou-se extrair as principais fontes de variabilidade deste conjunto de dados: relação entre amostras, variáveis e amostras/variáveis.

No âmbito deste trabalho não foram realizadas análises físico-químicas; no entanto, consideramos pertinente fazer uma breve abordagem aos métodos oficiais para análise dos parâmetros de qualidade do mel.

#### **2.1.1 - Água**

A AOCA propõe dois métodos para determinação da água: refractometria e secagem directa.

O método oficial por refractometria é baseado no princípio que o índice de refração aumenta com o teor em sólidos. O valor do teor de água é determinado com base no índice de refração do mel, referenciado por uma tabela padronizada.

De acordo com Bogadanov (2002), a determinação de água no mel por refractometria não reproduz o teor de água verdadeiro; contudo, é um método muito simples e usado hoje em dia.

### 2.1.2 - Índice Diastásico (ID)

De acordo com a Comissão Internacional para o mel, o Índice Diastásico pode ser determinado por dois métodos: método baseado no trabalho original de Shade *et al.*, modificado por Hadorn e Zurcher e White e Pairent, que utiliza o amido como substrato (método recomendado pela AOCA) e Phadebas, que utiliza um substrato artificial de amido.

No método de Shade uma solução padrão de amido é hidrolisada pela enzima da amostra, sob determinadas condições.

Para cálculo da diastase é utilizada uma equação de regressão, que determina o tempo Tx requerido para atingir a absorvância específica de 0,235 ( $\text{diastase} = 300/\text{Tx}$ ).

Uma unidade de actividade diastase, unidade Gothe, é definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 0,01 grama de amido, numa hora a 40 °C, sob condições padrão.

O método fotométrico de Phadebas utiliza um substrato artificial de amido, o qual é hidrolisado pela enzima, produzindo fragmentos azuis solúveis em água, e determinado fotométricamente a 620 mn.

A absorvância da solução é directamente proporcional à actividade da diastase na amostra.

### 2.1.3 - Hidroximetilfurfural

A Comissão Internacional para o mel recomenda 3 métodos para determinação do HMF: 2 métodos espectrofotométricos (White and Winkler) e o método de HPLC.

No método de White o cálculo do HMF é baseado na determinação da absorvância de UV a 284 nm .

Relativamente ao método de Winkler, a solução de mel ao reagir com ácido barbitúrico e p-toluidina, produz determinada cor que é medida a 550 nm.

No método de HPLC é utilizado a fase reversa com detecção U.V..

Kalabova *et al.*, 2003, validaram o método de HPLC e de Winkler's para quantificar o HMF em 56 amostras de mel. Ao compararem os valores de HMF obtidos nos dois métodos, verificaram que o método por HPLC apresentou maior fiabilidade ( $P < 0,05$ ).

Por outro lado, Zapala et *al.*, 2004, utilizando os três métodos, comparou os valores de HMF em méis monoflorais. Nos resultados obtidos, o método de HPLC e White apresentaram valores semelhantes, excepto nos méis de eucalipto. O método de Winkler apresentou os valores mais elevados.

O método de Winkler, recomendado pela Norma Europeia (1969), nos últimos anos tem sido menos utilizado, pois utiliza a p-toluídina que é uma substância cancerígena, e, para além disso, é menos preciso.

#### **2.1.4 - Açúcares redutores e sacarose aparente**

No método modificado de Lane-Eynon para determinação dos açúcares redutores e sacarose aparente, é utilizada uma solução de Felhing, modificada por Soxhlet, que é reduzida, durante a titulação no ponto de ebulição com uma solução de açúcares redutores do mel (utilizando como indicador o azul de metileno).

O conteúdo de sacarose aparente é dado pela diferença do poder redutor dos açúcares depois e antes da inversão.

#### **2.1.5 - Determinação de açúcares**

Na determinação dos açúcares existem 3 métodos oficiais: HPLC; GC e HPLC detecção amperométrica por pulsos.

Diversas formas de HPLC têm sido aplicadas na separação de mono e oligossacáridos. A mais antiga é a cromatografia de troca aniónica de complexos carbohidrato-borato, em que os açúcares são complexados com iões borato presentes na fase móvel (Nordin, 1983; Folkes e Crane, 1988, citado por Andrade, 1995).

A cromatografia de partilha de fase reversa é também aplicada ao estudo dos açúcares. A sílica alquilada ou aminoalquilada é utilizada frequentemente como fase estacionária, combinada com soluções de metanol/água e acetonitrilo/água com fases móveis (Honda, 1984, citado por Andrade, 1995). Dentro dos detectores usados temos o detector amperométrico por pulsos; índice de refração (RI); detector espectrofotométrico, detector electroquímico e detector de massa.

No método oficial recomendado por AOCA, o detector utilizado é RI. Os picos são identificados com base no seu tempo de retenção. A quantificação é determinada de acordo com a área ou altura do pico do padrão externo.

Este método determina frutose, glucose, sacarose, turanose e maltose. Podendo também ser utilizado para quantificar outros sacarídeos, tais como: melizitose, erlose, isomaltose, rafinose e outros descritos por Bogdanov (2002).

#### **2.1.5.1 - Determinação de açúcares por GC**

A Comissão Internacional de mel considera dois métodos para determinação dos açúcares por GC: Método de Pierce e I.N.A..

O princípio do método de Pierce-Portallier, baseia-se em que qualquer açúcar com grupos aldeídos ou cetona livres, como a glucose e frutose, podem ser convertidos nas suas oximas. As oximas são derivatizadas por silanização, separadas e quantificadas por GC, usando o manitol como padrão interno; no método de I.N.A. a formação de oximas é omitida e os açúcares são silanizados directamente.

#### **2.1.5.2 - HPLC com detecção amperométrica por pulsos**

Este método baseia-se no princípio que os açúcares a pH elevado (12-14) comportam-se como ácidos muito fracos, que são parcialmente ionizados, e posteriormente separados por mecanismos de troca iónica.

Neste método os açúcares são eluídos com uma solução de hidróxido de sódio e detectados por um sistema amperométrico por pulsos.

#### **2.1. 6 - Conductividade eléctrica**

A determinação da conductividade eléctrica é determinada com base na medida da resistência eléctrica.

A condutividade eléctrica (CE) é medida a 20° C, em dissoluções de 20 g de mel em 100 mL de água destilada.

### 2.1.7 - Cinzas

A AOCA para obter o teor de cinzas no mel, recomenda, a calcinação a uma temperatura não superior a 600°C.

O teor de cinzas é o resíduo que é obtido por calcinação, e expresso em percentagem de peso.

A determinação de todos das cinzas solúveis, e insolúveis, cinzas sulfatadas e a alcalinidade das cinzas (solúveis, insolúveis e totais), são habitualmente efectuadas por técnicas demoradas e trabalhosas (NP – 1308), Port. N° 449/76; AOAC, 1990. Por este motivo Sancho et *al.* (1991 e 1992) determinaram estes teores a partir da condutividade eléctrica, pois estabelecem boas correlações entre a rápida e simples medida da condutividade eléctrica, determinada em soluções à temperatura de 20 °C, e os distintos tipos de cinzas e respectivas alcalinidades.

O teor em cinzas está directamente relacionado com a condutividade eléctrica, este valor é utilizado, através de fórmulas, para determinar o valor de cinzas totais, solúveis e insolúveis; cinzas sulfatadas e a alcalinidade das cinzas (solúveis, insolúveis e totais), (Sancho, 1991; 1992):

- % de cinzas totais =  $0,083 \text{ CE} - 0,092$
- % de cinzas solúveis =  $0,070 \text{ CE} - 0,092$
- % de cinzas insolúveis =  $0,0126 \text{ CE} - 0,092$
- Alcalinidade das cinzas solúveis =  $0,85 \text{ CE} - 1,11$
- Alcalinidade das cinzas insolúveis =  $0,225 \text{ CE} + 0,035$
- Alcalinidade total das cinzas =  $1,093 \text{ CE} - 1,167$
- % de cinzas sulfatadas =  $0,121 \text{ CE} - 0,097$

### 2.1.8 - pH e acidez livre

A Comissão Internacional para o mel considera dois métodos para cálculo da acidez livre: por titulação até pH 8,3 e titulação até ao ponto de equivalência.

Nos métodos oficiais (AOCA e Norma Europeia) a acidez livre é medida por titulação até pH 8,3: a amostra é dissolvida em água, o pH é medido e a solução é titulada com 0,1 M de hidróxido de sódio até pH 8,3.

No 2º método a acidez livre é a acidez titulada com hidróxido de sódio até ao ponto de equivalência (pHe).

A acidez livre é acidez titulável com hidróxido de sódio até ao ponto de equivalência; correspondendo a acidez lactónica à acidez combinada a qual não é directamente titulada. A acidez total é a soma da acidez livre com a acidez lactónica.

### 2.1.9 – Reprodutibilidade de métodos de análise

A diferença absoluta entre os resultados de testes individuais, obtidos em condições de reprodutibilidade (isto é, para um produto idêntico obtido por operadores em diferentes laboratórios, utilizando o mesmo método), não deve exceder determinados valores, dentro do limite de probabilidade de 95%.

A variação interlaboratorial, determinada pelo coeficiente de variação de  $RSD_R\%$  é o parâmetro de qualidade mais usado para comparar a precisão de métodos de análise analíticos.

$$R=2,8 \times SR$$

$$RSD_r\%=(SR/\bar{X}) \times 100$$

SR – desvio padrão, calculado a partir de resultados obtidos em condições de reprodutibilidade.

$RSD_R$  - desvio padrão relativo calculado a partir de resultados obtidos em condições de reprodutibilidade.

Na Tabela 6, estão representados os valores de  $RSD_r\%$  para os métodos Oficiais da Comissão Internacional do Mel.

Tabela 6 –Reprodutibilidade dos Métodos Oficiais da Comissão Internacional do mel, Bogadanov, (2000).

Método, parâmetro	RSD r %min-max
Humidade, refractometria	1,0-2,5
Conductividade eléctrica	3,4-4,4
Teor de cinzas	4,3-13,2
Acidez livre por titulação a pH 8,3	10,3-22
Acidez livre com equivalência do ponto de titulação	8,7-46,8
HMF com HPLC	6,1-10,9
HMF White	3,7-22
HMF Winkler	7,9-15,2
Actividade da diastáse (Schade)	20,5-26,1
Actividade da diastáse (Phadebas)	11-17,9
Açúcares por HPLC	
- Frutose	1,5-1,9
- Glucose	1,6-3,2
- Sacarose	11,4
Açúcares por GC	
- Frutose	3,9-8,6
- Glucose	2,6-7,5
- Sacarose	7,2
Substâncias insolúveis	26,5-84,4



## 2.2 - Análise Multivariada

Numa primeira fase do trabalho, com o objectivo de detectarmos as amostras com os valores fora dos estabelecidos pela Legislação Comunitária e Nacional; e identificarmos as principais diferenças existentes nos 5 anos de análise, foi calculado a média, valor mínimo e máximo para os diferentes parâmetros de qualidade do mel (açúcares redutores, sacarose aparente, frutose, glucose, Índice Diastásico (ID), Índice de Formol (IF), HMF, condutividade, cinzas totais, cinzas sulfatadas, acidez livre, acidez lactónica, etc.).

Com base nas análises polínicas, verificamos que as características palinológicas dos méis da Serra do Caramulo são: predominância de pólen de *Ericacea* (tipo *Erica* Sp. - urze) – mel monofloral de urze; predominância de pólen de *Eucalyptus globulus* L - mel monofloral de eucalipto e as combinações de *Eucalyptus globulus* L, *Ericacea* e *Castanea Sativa* Miller – mel multifloral.

Tendo como objectivo do nosso trabalho contribuir para caracterização de méis monoflorais da Serra do Caramulo, e sabendo à partida que os méis multiflorais, não constituem em si um grupo coeso de características específicas, as amostras de mel multifloral não foram contempladas no nosso estudo. Desta forma, após a selecção das amostras de mel monofloral de *Ericacea* (tipo *Erica* sp.) e *Eucalyptus globulus* L., foi construída uma matriz, para cada ano de análise. Os dados foram analisados pelo programa CATS, desenvolvido no Institut National Agronomique Paris-Grignon em colaboração com a Universidade de Aveiro (Barros, 1999). Antes da Análise por Componentes Principais os dados sofreram um pré-tratamento: centrado e reduzido por colunas, de forma a eliminar o efeito da média e os efeitos aditivos.

No âmbito deste trabalho foi realizada uma pesquisa sobre análises físico-químicas de méis de diferentes regiões do país: Algarve, Douro, Minho, Beira Litoral, Beira Interior, Ilha de S. Miguel. Através dos dados destas análises, foi construída uma matriz, para cada região, à qual se juntou os dados do mel da Serra do Caramulo dos anos de 1999, 2000 e 2001. A matriz resultante foi posteriormente analisada pelo programa CATS, desenvolvido no Institut National Agronomique Paris-Grignon em colaboração com a Universidade de Aveiro (Barros, 1999). Os dados da matriz sofreram um pré-tratamento: centrado e reduzido por colunas.

## **2.3 - Análise por FTIR**

### **2.3.1. Amostras de mel**

As amostras de mel objecto do nosso estudo foram colhidas nos dias 27, 28, 29 e 30 de Agosto de 2004 na região da Serra do Caramulo que está circunscrita aos concelhos de Tondela, Vouzela e Oliveira de Frades.

A maior parte das amostras foram crestadas em Agosto, sendo algumas recolhidas em fase de decantação.

Uma análise preliminar às amostras provenientes desta região revelou que as amostras dos distintos concelhos eram bastante semelhantes, apresentando a maioria a cor âmbar a âmbar escura e com consistência semelhante - fluidas.

Todas as amostras foram extraídas por centrifugação.

O mel recolhido foi armazenado em frascos de vidro e identificados com um nº, nome do produtor e ano e proveniência.

### **2.3.2. Aquisição dos espectros**

Os espectros de FT-IR foram adquiridos com um espectómetro Bruker IFS55 FTIR equipado com uma célula de ATR horizontal em diamante de apenas uma reflexão (Golden Gate), o comprimento de onda utilizado foi entre 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$  a uma resolução de 4 $\text{cm}^{-1}$  e 64 Scans. De cada amostra efectuaram-se 5 réplicas.

Entre as determinações de cada amostra o cristal foi lavado com água destilada.

Os espectros foram convertidos para o formato JCAMP-DX, e analisados pelo programa CATS desenvolvido no Institut National Agronomique Paris-Grignon em colaboração com a Universidade de Aveiro (Barros, 1999).

### 2.3.3. – Análise de Componentes Principais

Um dos objectivos do nosso trabalho é validar a espectroscopia de Infravermelho, através de Análise de Componentes Principais, para separação das amostras de mel de diferentes proveniências da Serra do Caramulo.

Com base nas análises polínicas realizadas em anos anteriores, verificamos que a maioria das amostras de mel de *Ericaceae* eram provenientes de zonas de altitude; desta forma, e no sentido de extrair alguma informação sobre a origem botânica, as amostras foram agrupadas em: zonas de altitude (>800m) e zonas de menor altitude (<800m).

Os espectros de FT-IR das diferentes amostras foram submetidos a um tratamento de dados (centrar e reduzir por linhas e centrar por colunas, para eliminar o efeito da média e os efeitos aditivos) e analisados em diferentes regiões do espectro, o espectro total (4000-600  $\text{cm}^{-1}$ ), a região 3500-2800  $\text{cm}^{-1}$ , os comprimentos de onda entre 1800-1200  $\text{cm}^{-1}$  e a região do *fingerprint* (1500-750  $\text{cm}^{-1}$ ).

O programa utilizado para tratamento dos dados foi o CATS desenvolvido no Institut National Agronomique Paris-Grignon em colaboração com a Universidade de Aveiro (Barros, 1999).

## **CAPÍTULO 3**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 3.1- Análise Multivariada

#### 3.2 – Análises de FTIR

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1– Análise Multivariada

##### 3.1.1 – Média, valor mínimo e valor máximo

Numa primeira análise, procedeu-se ao cálculo da média, valor mínimo e máximo dos diferentes parâmetros clássicos de qualidade do mel.

Esta primeira abordagem, permitiu-nos detectar alguns valores fora dos estabelecidos pela Legislação Portuguesa (NP – 1309, Port. N°449/76), e avaliar o tipo de mel existente na Serra do Caramulo.

##### 3.1.1.1 – Açúcares redutores, sacarose aparente e Índice Diastásico

Conforme se pode observar pela tabela 7, todas as amostras apresentaram valores de açúcares redutores iguais ou superiores a 60%, à excepção de duas amostras: uma de 1999 e outra de 2002, pelo que estas devem considerar-se méis de néctar (NP – 1307, Port.n° 449/76).

Em relação à sacarose aparente, o ano em que apresentou o valor mais elevado foi o de 2002.

No que respeita ao Índice Diastásico (ID), todas as amostras apresentaram valores de superior a 8 (NP – 1309, Port. N°449/76), à excepção de uma amostra de 1999. No ano de 2002 este parâmetro apresentou os valores mais elevados, note-se que foi neste ano que ocorreu mudança de laboratório, podendo esta diferença estar relacionada com a metodologia utilizada.

Tabela 7 - Resultados da média, Vmínimo, Vmáximo para os açúcares redutores, sacarose aparente e Índice Diastásico.

Ano	Açúcares redutores			Sacarose aparente			Índice Diastásico		
	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax
1998	71,34	65,7	80,4	2,37	0,36	7,7	22,7	13	34
1999	70,49	59,59	75,98	2,1	0,73	5,87	23,6	6	39
2000	75,33	71,27	78,59	1,69	0,26	4,76	23,44	17	38
2001	72,58	68,21	75,66	1,55	0,34	3,88	22,87	8	48
2002	71,41	57,2	79	6,32	0,56	13,1	34,15	20	67

### 3.1.1.2 – Conductividade, cinzas totais, cinzas sulfatadas

Na Tabela 8 estão representados a média, valor mínimo, valor máximo para conductividade, cinzas totais e cinzas sulfatadas.

O valor médio de conductividade eléctrica obtido para as amostras de mel nos cinco anos de cresta foi de 5, valor ligeiramente inferior ao obtido por Vorwhol (1964) para méis monoflorais de *Erica* sp.. Como nenhuma amostra de mel analisada apresentou valores de conductividade eléctrica superiores a 10, todas as amostras são méis de néctar, o que é corroborado pelo teor de cinzas totais inferior a 0,6% (NP-1309, Port. N°449/76), à excepção do ano de 2002, no qual apresentou um valor máximo de 1,73.

Tabela 8 - Resultados da média, Vminimo, Vmáximo da conductividade, cinzas totais e cinzas sulfatadas.

Ano	Conductividade			Cinzas totais			Cinzas sulfatadas		
	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax
1998				0,35	0,22	0,55	0,55	0,36	0,83
1999	4,82	3,9	6,3	0,3	0,23	0,43	0,48	0,39	0,67
2000	5,5	2,9	8	0,36	0,15	0,57	0,57	0,25	0,87
2001	4,9	3,3	7,6	0,31	0,18	0,54	0,49	0,3	0,82
2002	4,78	3,82	6,82	0,29	0,01	1,73	0,35	0,2	0,49

### 3.1.1.3 – Acidez livre, acidez lactónica e acidez total

Todas as amostras apresentaram um valor de acidez livre inferior a 40 meq/kg de mel, pelo que se encontram dentro dos limites estabelecidos pela Legislação Portuguesa (NP-130. Port. N° 449/76), com excepção de uma amostra da cresta de 2001.

A relação acidez lactónica/acidez livre apresenta um valor médio de 0,16, inferior ao valor assinalado por White (1979) para méis de néctar (0,363), mas que não é suficientemente baixo para predizer uma origem de melada.

Tabela 9- Resultados da média, Vminimo, Vmáximo de Acidez livre, Lactónica e total.

Ano	Acidez Livre			Acidez Lactónica			Acidez Total		
	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax
<b>1998</b>							40,79	21,24	54,70
<b>1999</b>	28,01	19,59	33,77	4,24	0,1	7,75	32,26	21,85	37,56
<b>2000</b>	28,27	17,65	37,24	3,47	0,1	7,5	31,76	19,95	43,89
<b>2001</b>	32,26	20,04	40,09	5,06	0,35	12,74	37,34	24,94	51,24
<b>2002</b>	26,06	17,86	36,63	4,94	0,39	9,64	30,99	20,6	41,91

### 3.1.1.4 – pH, Índice de Formol (IF), HMF

Na Tabela 10 podemos verificar que os valores de pH situam-se entre 3,5-4,5 pelo, que, segundo a bibliografia (Manuel Suisse dês Denrées Alimentaires, 1974) todas as amostras de mel são de néctar.

As amostras de mel da região da Serra do Caramulo, apresentam um Índice de Formol dentro dos valores normais assinalados pelo Manuel Suisse dês Denrées Alimentaires (1974), com um Índice de Formol (IF) inferior a 1,55 meq/100g de mel, excepto uma amostra de 1998.

Relativamente ao HMF, todas as amostras apresentaram valores dentro dos valores legislados (<40), à excepção de uma amostra de 1999. Este valor elevado poderá estar relacionado com o envelhecimento do mel ou com as más condições de conservação (ex: temperaturas excessivas).

Tabela 10 - Resultados da Média, Vminimo, Vmáximo de pH, Índice de Formol (IF), HMF.

Ano	pH			Índice de Formol (IF)			HMF		
	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax	Média	Vmin	Vmax
<b>1998</b>				1,10	0,51	1,93	14,1	1,65	32
<b>1999</b>	4,31	4,15	4,5	1,01	0,68	1,27	28,98	6,43	74,57
<b>2000</b>	4,1	3,87	4,47	0,83	0,51	1,07	7,79	0,98	17,3
<b>2001</b>	3,8	3,56	4,32	1,04	0,54	1,4	7,34	2,62	32,38
<b>2002</b>	4,27	3,9	4,5	0,975	0,47	1,46	6,28	2,1	14,1



### 3.1.2 –Análise por Componentes Principais (PCA)

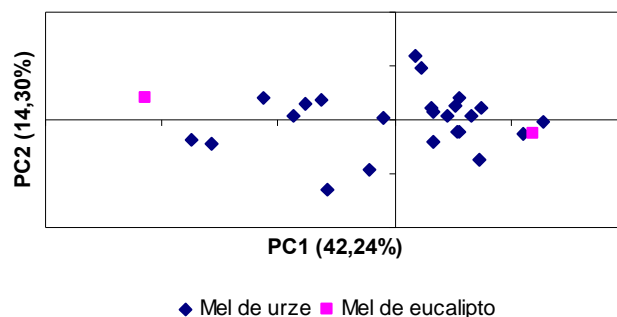
#### 3.1.2.1– Resultados das amostras de 1998

Em 1998 apenas duas amostras apresentaram pólen predominante de *Eucalyptus globulus* L. - eucalipto; sendo portanto a amostragem pouco representativa.

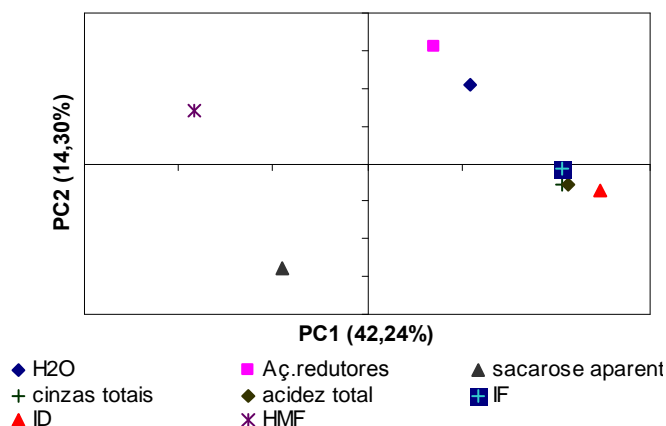
Pela observação do Gráfico 1, verificamos que as duas amostras de mel de eucalipto encontram-se em lados opostos (PC1 negativo e positivo) – não se verificando o agrupamento dos dois tipos de mel que se pretendem caracterizar.

Tendo em conta que a Análise por Componentes Principais é um método que se baseia na extracção das principais fontes de variabilidade de um conjunto de dados, permitindo observar eventuais agrupamentos entre amostras, o número de amostras de mel de eucalipto não foi suficiente para estabelecer fontes de variabilidade entre os dois tipos de mel.

No gráfico das contribuições factoriais (Gráfico 2) observamos que a amostra de mel de eucalipto que se encontra no PC1 negativo possui valores superiores em HMF em relação à outra amostra de mel de eucalipto, que se encontra no PC1 positivo.



**Gráfico 1** - Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1998.



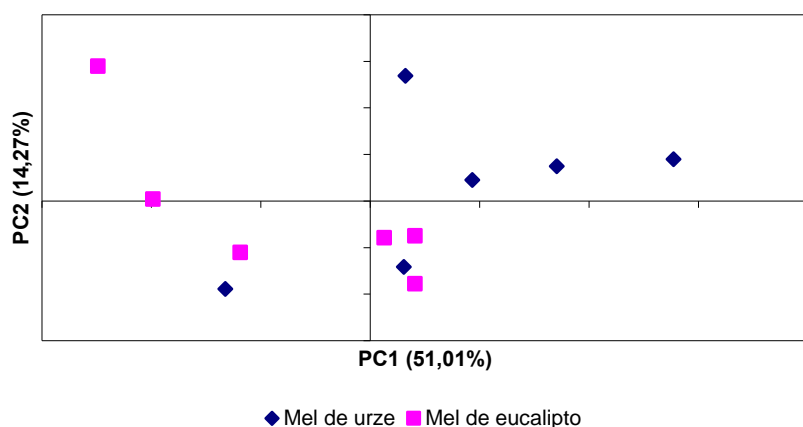
**Gráfico 2** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1998.

### 3.1.2.2 – Resultados das amostras de 1999

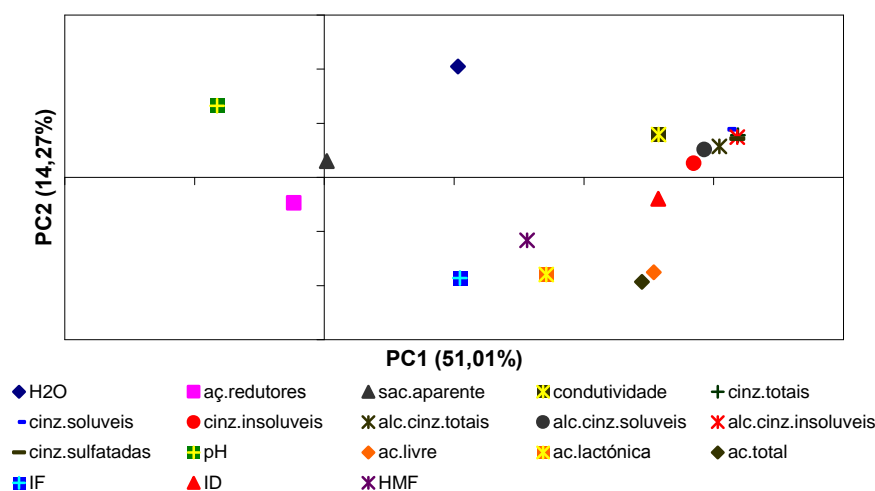
No gráfico das coordenadas factoriais (Gráfico 3), verificamos que a maioria das amostras com uma flora predominante de *Ericaceae* tipo *Erica* sp.(urze) encontram-se no PC1 positivo (I Quadrante), com excepção de duas amostras. As amostras de mel de eucalipto encontram-se divididas entre o PC1 positivo e negativo.

Ao relacionarmos os gráficos de dispersão das coordenadas factoriais com as contribuições factoriais (Gráfico 3 e 4), concluímos que a maioria das amostras monoflorais de urze, apresentam valores superiores em condutividade, cinzas e água.

Pela observação do gráfico das contribuições factoriais, constatamos que a condutividade está correlacionada com o teor em cinzas (cinzas solúveis, insolúveis e totais; alcalinidade das cinzas insolúveis, insolúveis e totais, e cinzas sulfatadas), verificando-se a sobreposição de alguns destes parâmetros.



**Gráfico 3** - Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999.



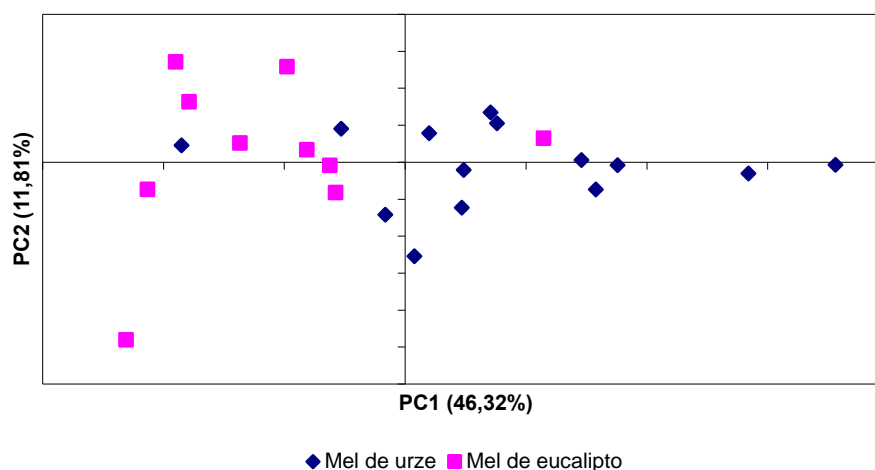
**Gráfico 4** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999.

### 3.1.2.3 – Resultados das amostras de 2000

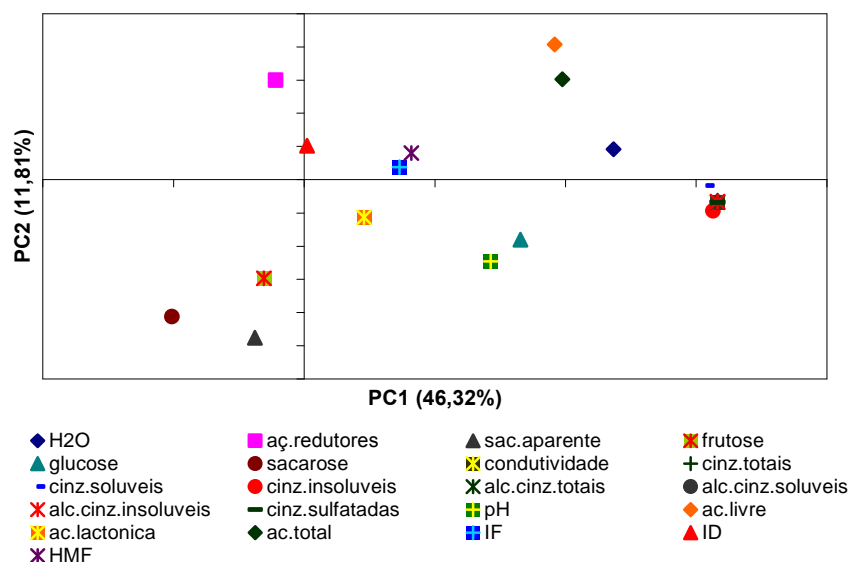
No gráfico das coordenadas factoriais (Gráfico 5), verificamos que a maior parte das amostras de mel de eucalipto encontram-se no PC1 negativo, com exceção de uma amostra.

A combinação dos gráficos de dispersão das coordenadas factoriais com as contribuições factoriais, permite-nos concluir que a maioria das amostras monoflorais de eucalipto apresentam valores superiores em açúcares redutores, sacarose, sacarose aparente e frutose; em contrapartida, grande parte das amostras de urze apresentam valores superiores em condutividade, cinzas, acidez, H<sub>2</sub>O, IF, glucose, pH e HMF.

Verificou-se, mais uma vez, a correlação da condutividade com o teor em cinzas.



**Gráfico 5** - Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2000.



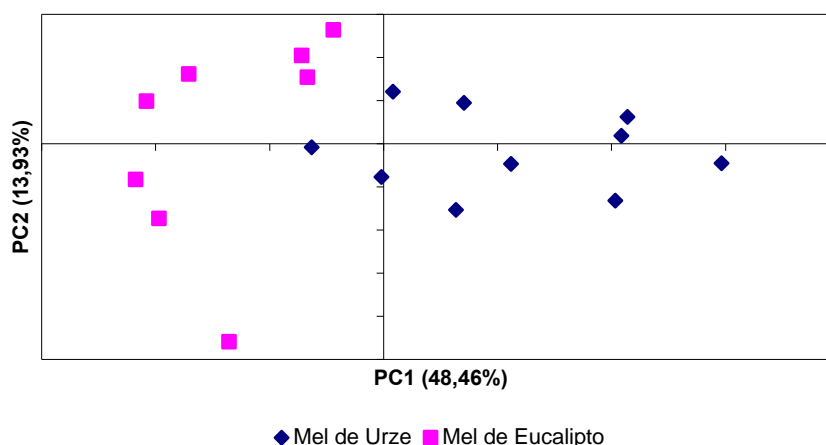
**Gráfico 6** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2000.

### 3.1.2.4 – Resultados das amostras de 2001

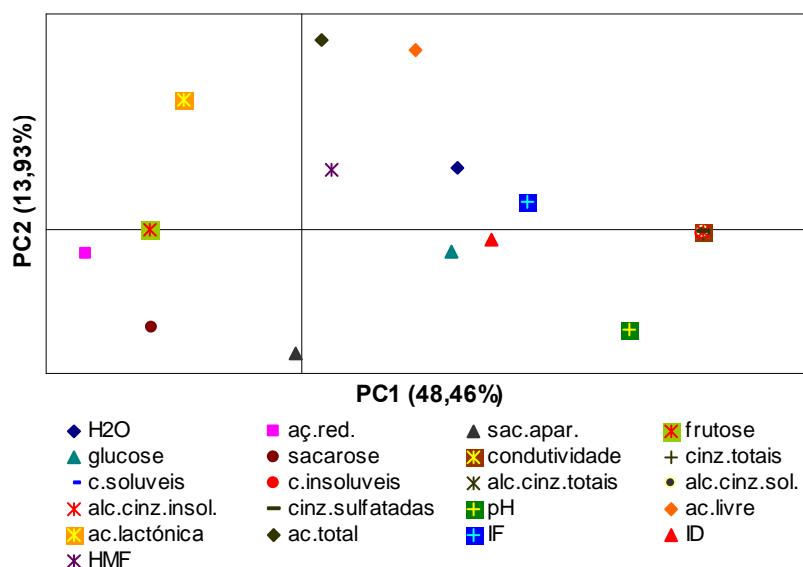
Pela análise do Gráfico de dispersão das coordenadas factoriais (Gráfico 7), observamos que a maioria das amostras de urze se encontram no PC1 positivo.

Ao confrontarmos a informação do gráfico das coordenadas factoriais vs contribuições factoriais, concluímos que o mel de eucalipto apresenta valores superiores em sacarose, sacarose aparente, açúcares redutores, frutose e acidez lactónica, apresentando a maioria das amostras de mel de urze valores superiores para os restantes parâmetros: condutividade, H<sub>2</sub>O IF, ID, HMF, acidez, glucose e pH.

À semelhança dos anos anteriores verificou-se a correlação da condutividade com o teor em cinzas.



**Gráfico 7** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – amostras de 2001.



**Gráfico 8** – Contribuições factoriais do PC1 PC2 – amostras e 2001.

### 3.1.2.5 – Resultados das amostras de 2002

Em 2002 não foram realizadas análises polínicas às amostras de mel, desta forma, não foi possível agrupar as amostras por predominância de pólen.

De forma a extrair alguma informação, na Análise por Componentes Principal, separaram-se as amostras por regiões: Serra da Gralheira (concelho de S. Pedro do Sul); e a Serra do Caramulo (concelho de Tondela, Vouzela e Oliveira de Frades).

No Gráfico 9, podemos verificar que a maioria das amostras da Serra do Caramulo (à excepção de duas amostras) situam-se no PC1 positivo e as amostras da Serra da Gralheira distribuem-se no PC1 positivo e negativo.

Ao cruzarmos a informação do gráfico das coordenadas factoriais vs contribuições factoriais, verificamos que as amostras da Serra do Caramulo têm uma concentração superior em IF, glucose e sacarose.

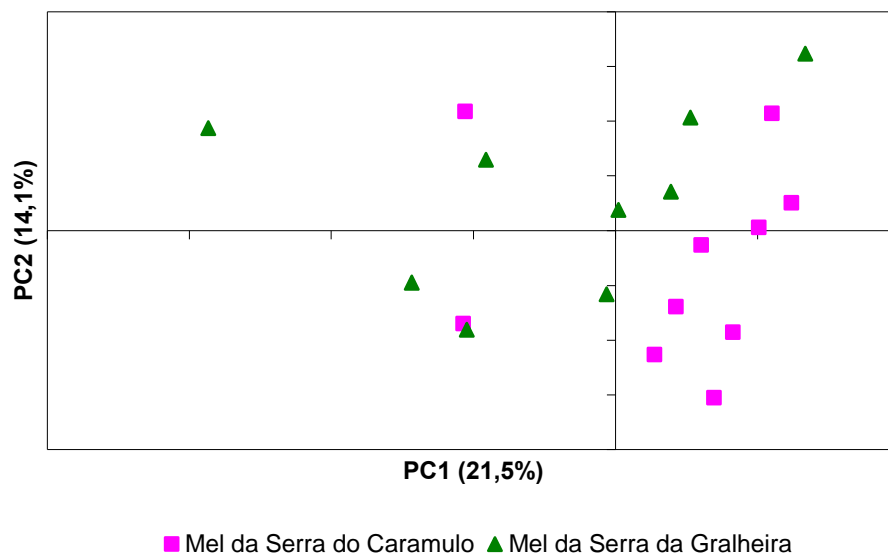
No gráfico das contribuições factoriais, constatamos que a condutividade e as cinzas não se correlacionam, conforme acontecia em anos anteriores, o que pode estar relacionado com a mudança de laboratório nestes anos – o método de análise pode ter sido diferente.

A análise polínica é um instrumento importante para a tipificação de um mel. Só com base nos parâmetros físico-químicos, e com uma amostragem reduzida, torna-se difícil caracterizar de uma forma homogênea e bem representativa o mel de uma região.

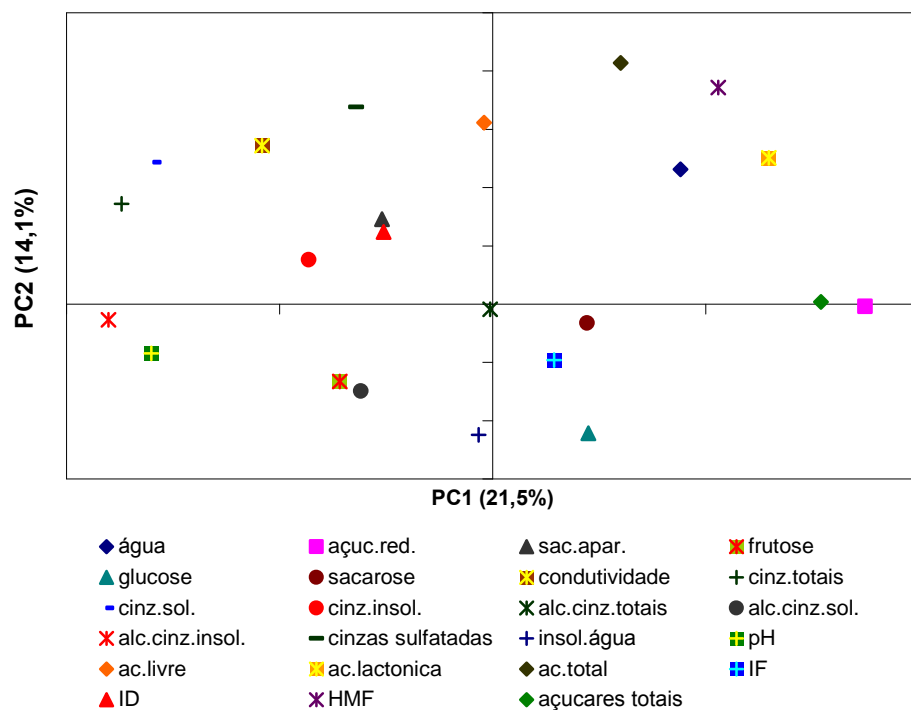
Com base nos resultados obtidos por PCA, referente às análises realizadas em 1999, 2000 e 2001, podemos afirmar que o mel de eucalipto possui valores superiores em açúcares redutores, sacarose, sacarose aparente e frutose relativamente ao mel de urze.

Pela observação do gráfico das contribuições factoriais verificamos que estes três parâmetros não se agrupam no mesmo PC, o que nos leva a supor que as características palinológicas, destas amostras de mel, não sejam a predominância de pólen de *Eucalyptus globulus* L. e *Ericacea* tipo *Erica* Sp..

.



**Gráfico 9-** Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – amostras de 2002.

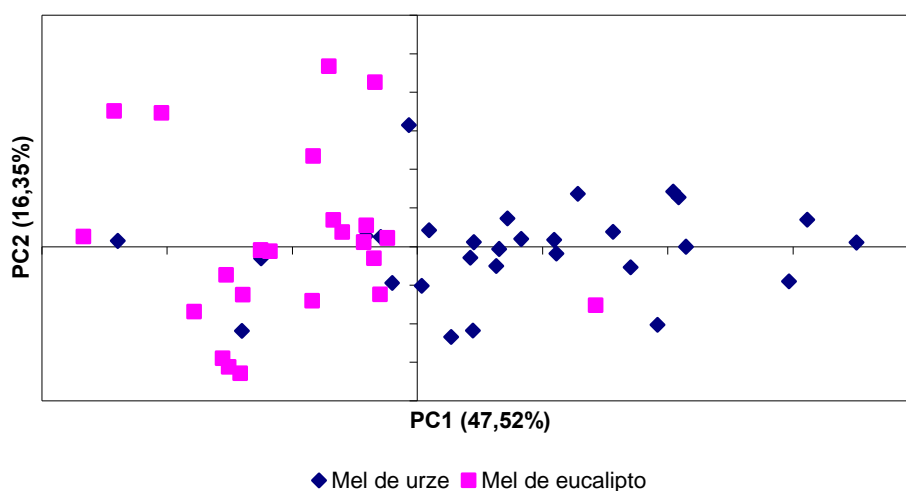


**Gráfico 10 -** Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2002.

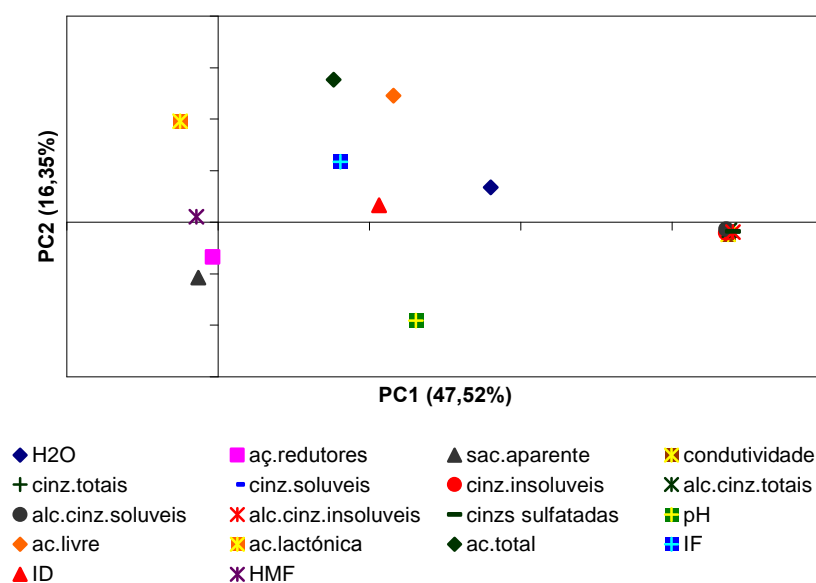
### 3.1.2.6 – Resultados dos anos 1999, 2000 e 2001

No Gráfico 11, observamos que as amostras de mel de eucalipto encontram-se no PC1 negativo (à exceção de uma).

Pela combinação coordenadas factoriais vs contribuições factoriais, concluímos que o mel de eucalipto apresenta valores superiores em sacarose aparente, açúcares redutores, HMF e acidez lactónica, relativamente ao mel de urze. A maioria das amostras de mel de urze possuem maior concentração em condutividade, IF, ID, acidez livre, acidez total, cinzas e H<sub>2</sub>O.



**Gráfico 11** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – amostras de 1999, 2000, 2001.

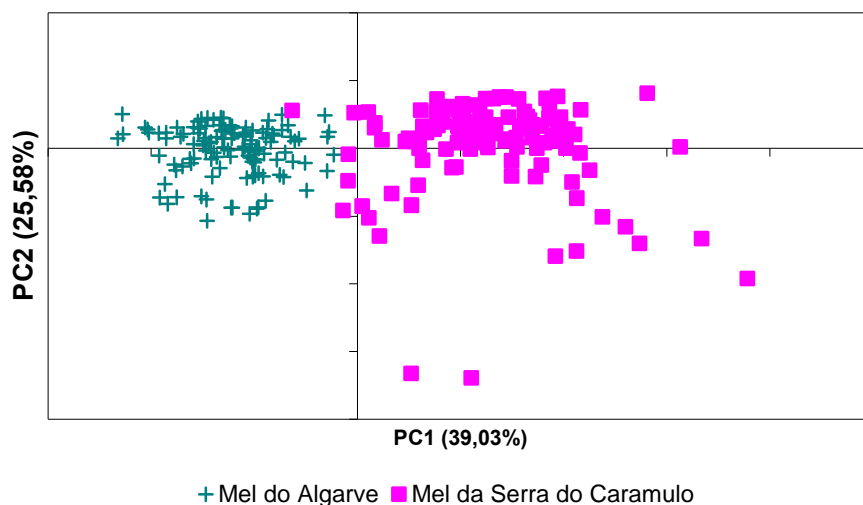


**Gráfico 12** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 1999, 2000 e 2001.

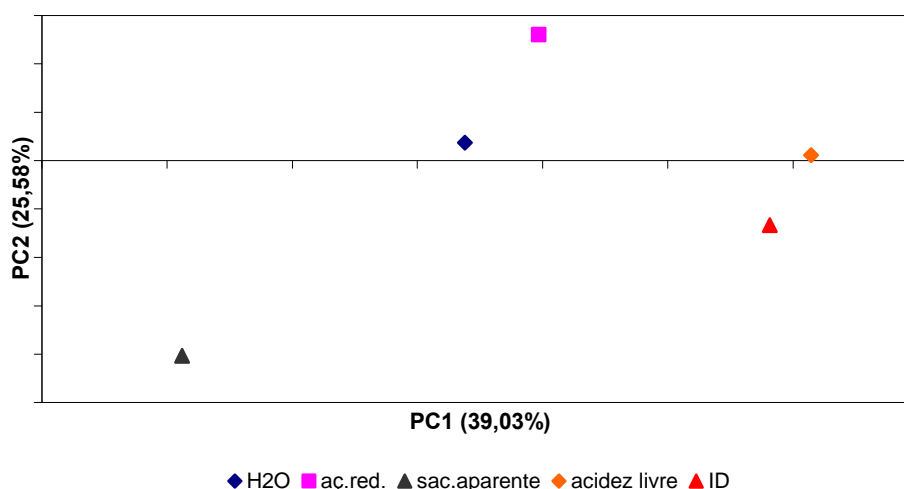
### 3.1.2.7 – Comparação do Mel da Região do Algarve com o Mel da Serra do Caramulo

Pela observação do gráfico de dispersão das coordenadas factoriais, podemos verificar as amostras do Mel da região do Algarve estão agrupadas no PC1 negativo e as amostras do mel da Serra o Caramulo no PC1 positivo.

Ao confrontar-mos esta informação com o gráfico das contribuições factoriais, verificamos que o Mel da Serra do Caramulo apresenta valores superiores em todos os parâmetros analisados: H<sub>2</sub>O, açúcares redutores, sacarose aparente, acidez livre e ID.



**Gráfico 13** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel da região Algarve – Serra do Caramulo.



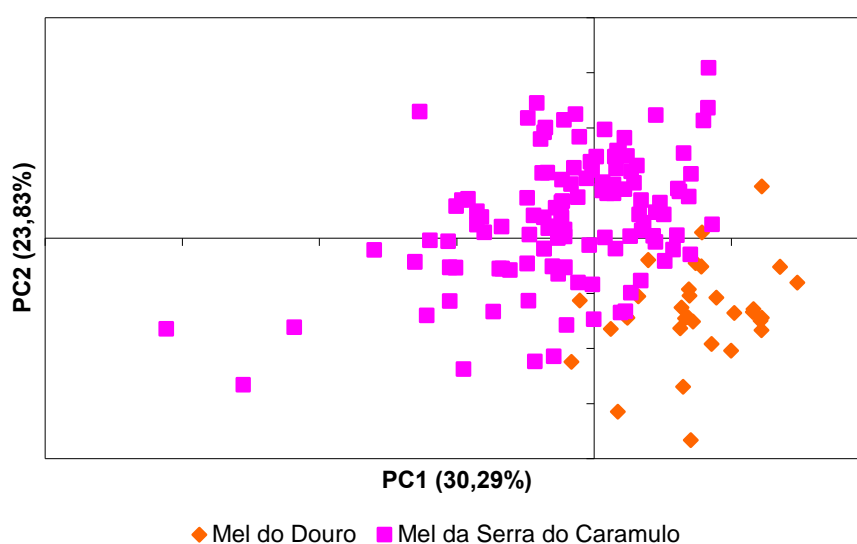
**Gráfico 14** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel da região Algarve – Serra do Caramulo.



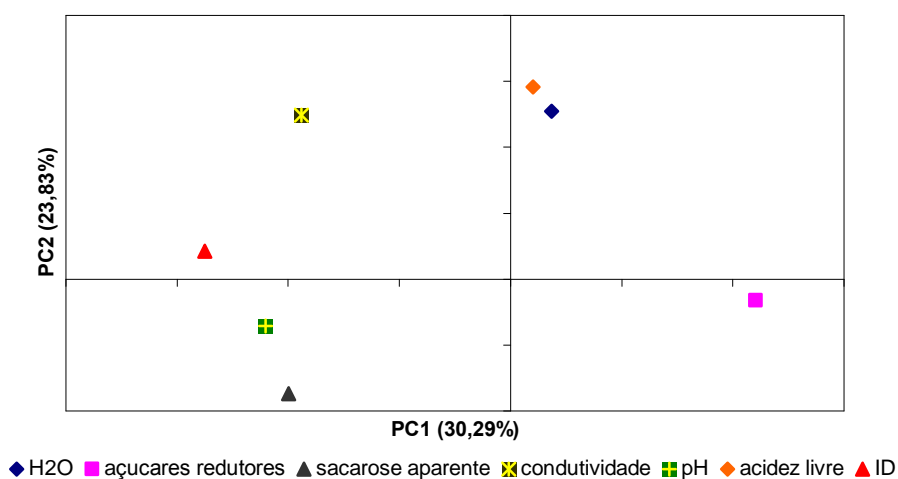
### 3.1.2.8 – Comparação do Mel da Região do Douro - Serra do Caramulo

No gráfico de dispersão das coordenadas factoriais (Gráfico 15), podemos observar que a maioria das amostras do Mel da Região do Douro encontram-se no II quadrante, PC1 positivo.

Comparando com o gráfico das contribuições factoriais, concluímos que o Mel da Região do Douro apresenta teores superiores em açúcares redutores e o mel da Serra do Caramulo valores superiores em pH, acidez livre, condutividade, H<sub>2</sub>O, ID e sacarose aparente.



**Gráfico 15** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel do Douro - Serra do Caramulo.

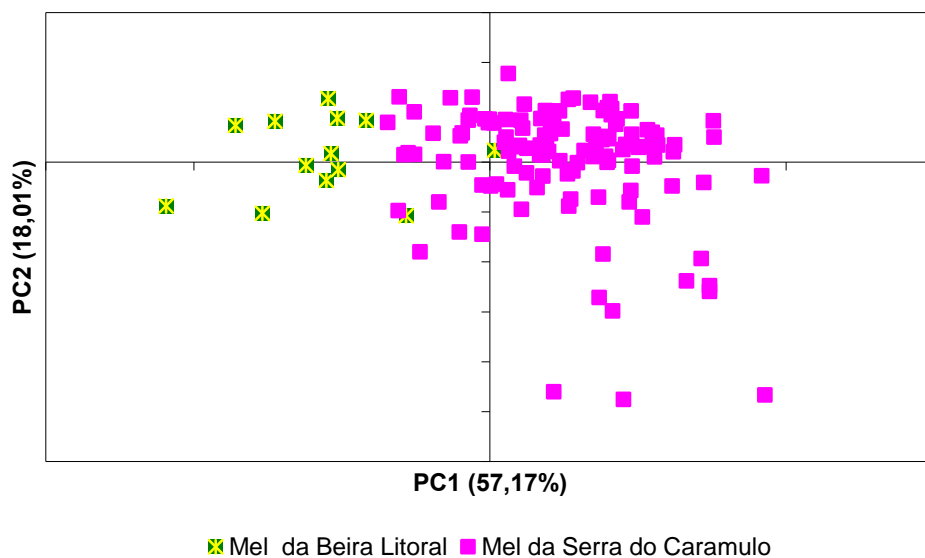


**Gráfico 16** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel do Douro - Serra do Caramulo.

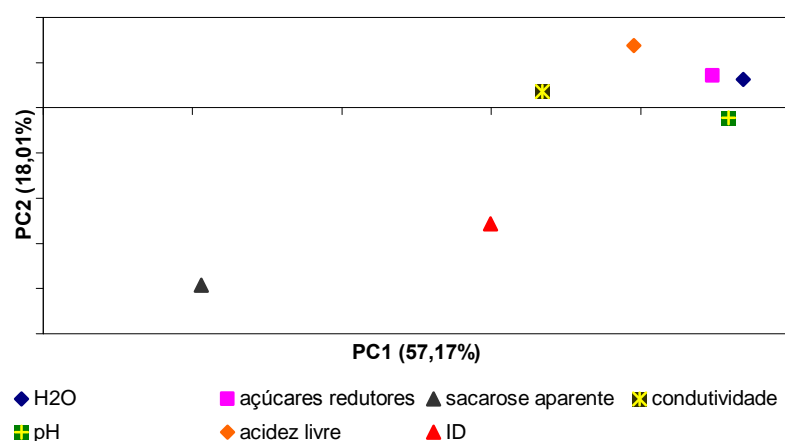
### 3.1.2.9 – Comparação do Mel da Região da Beira Litoral - Serra do Caramulo

No Gráfico 17, observamos que a maioria das amostras da Beira Litoral, encontram-se no PC1 negativo.

Ao confrontar-mos esta informação com o gráfico das contribuições factoriais, verificamos que o Mel da Serra do Caramulo apresenta valores superiores para todos os parâmetros analisados: sacarose aparente, H<sub>2</sub>O, acidez livre, pH, ID condutividade e açúcares redutores.



**Gráfico 17** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel da Beira Litoral- Caramulo.

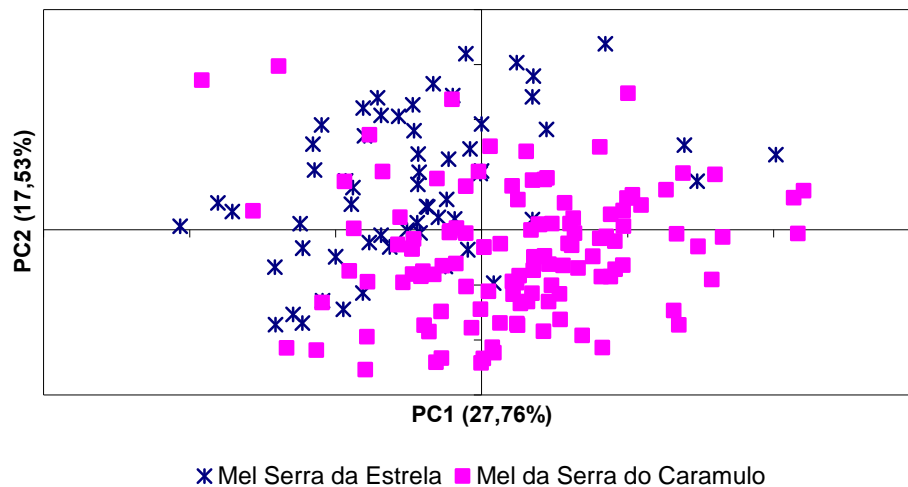


**Gráfico 18** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel da Beira Litoral-Caramulo.

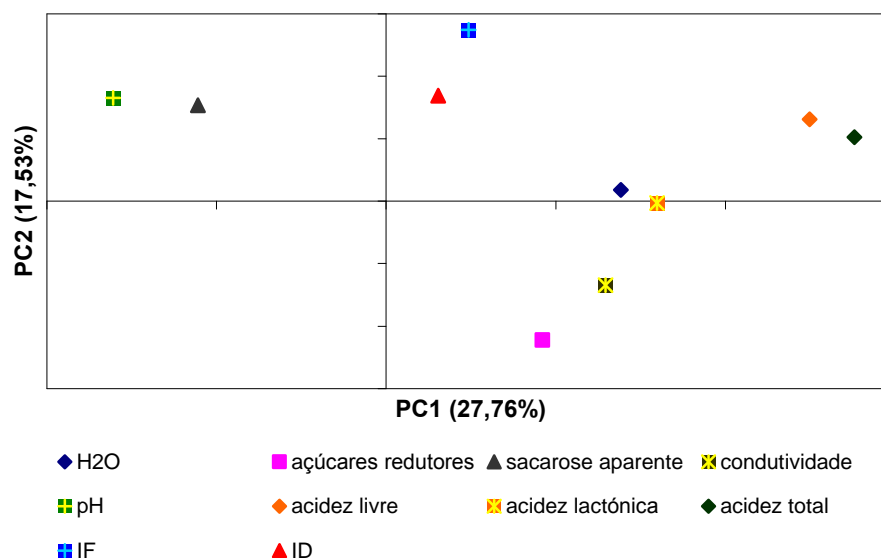
### 3.1.2.10 – Comparação do Mel da Serra da Estrela - Serra do Caramulo

Pela análise do gráfico das coordenadas factoriais (Gráfico 19), observamos que a separação destes dois tipos de méis não é nítida – as amostras do mel da Serra do Caramulo encontram-se espalhadas pelo PC1 negativo e positivo. A maioria das amostras do mel da Serra da Estrela agrupam-se no PC1 negativo – estas amostras possuem valores superiores em sacarose aparente e pH.

Esta semelhança pode-se dever ao facto de que ambos os tipos de méis são de montanha - zonas de altitude onde predominam as *Ericaceae*; e também à proximidade geográfica.



**Gráfico 19** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel da Serra da Estrela-Caramulo.

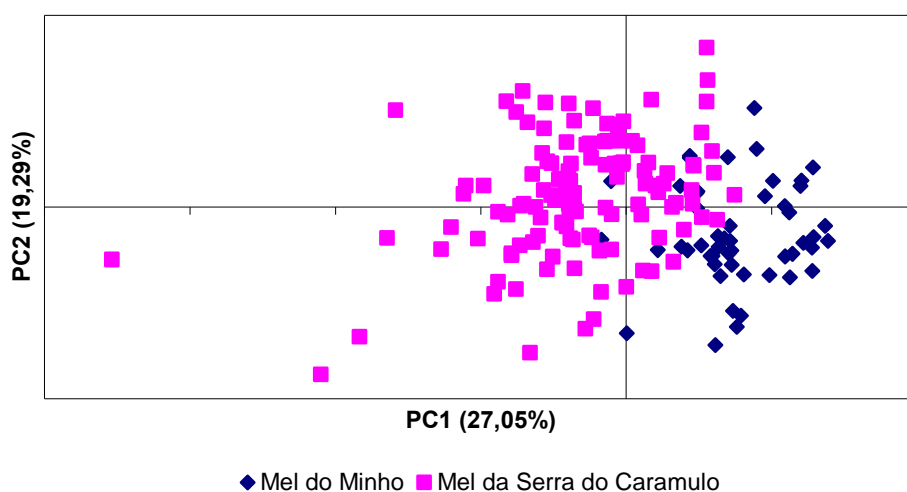


**Gráfico 20** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Serra da Estrela- Caramulo.

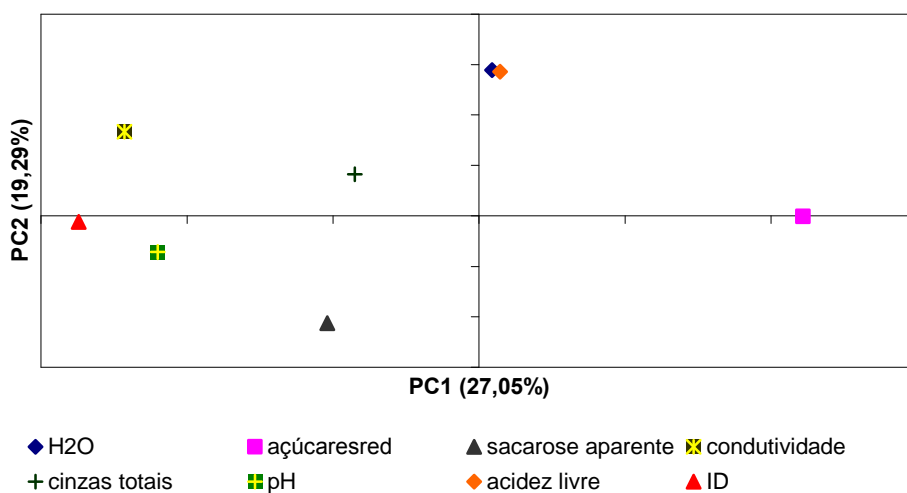
### 3.1.2.11 – Comparação do Mel da Região do Minho - Serra do Caramulo

No Gráfico 21, constatamos que a maioria das amostras da Região do Minho agrupam-se no PC1 positivo, predominando as amostras da Serra do Caramulo no PC1 negativo.

Analizando o gráfico das contribuições factoriais, verificamos a maioria das amostras da região do Minho possuem valores superiores em acidez livre, água e açúcares redutores.



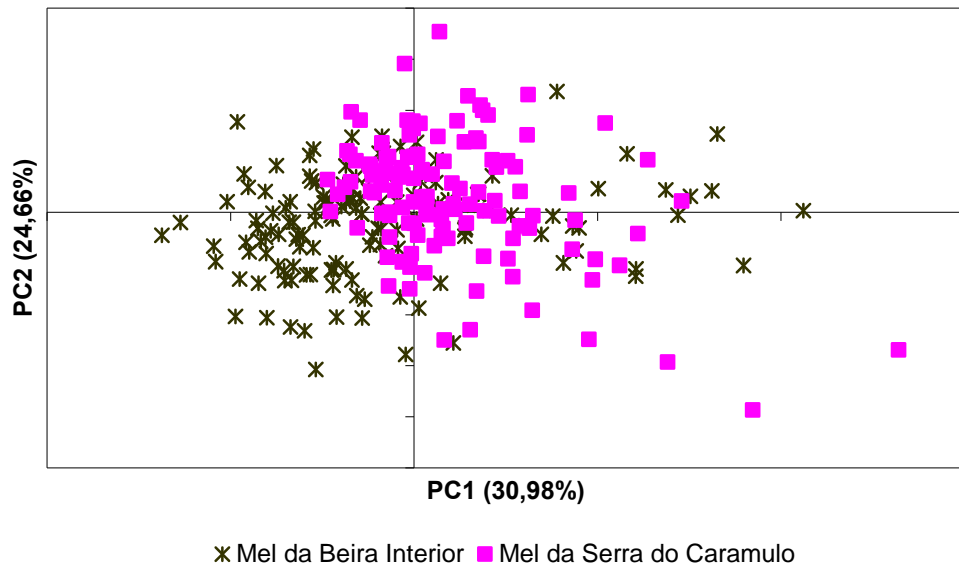
**Gráfico 21** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel do Minho-Caramulo.



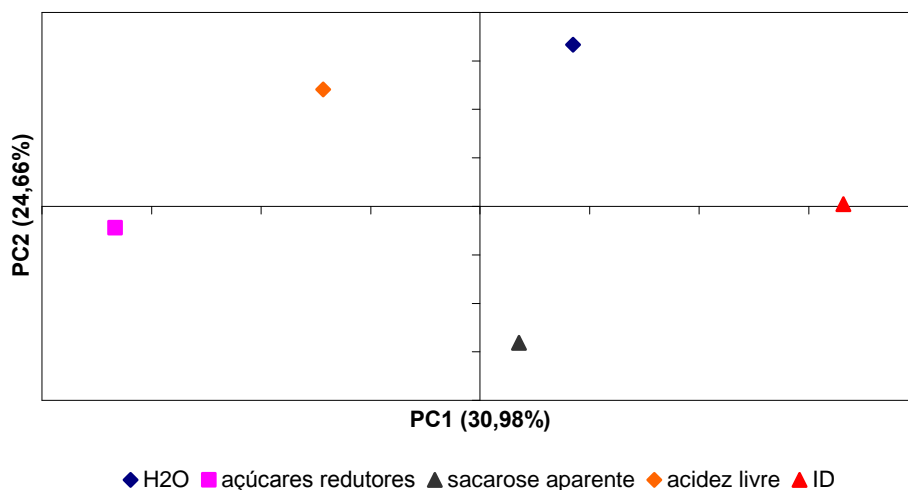
**Gráfico 22** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Mel do Minho-Caramulo.

### 3.1.2.12 – Comparação do Mel da Região da Beira Interior - Serra do Caramulo

À semelhança do que aconteceu com o mel da Serra da Estrela, não se verifica o agrupamento do mel da Beira Interior e o mel da Serra do Caramulo (Gráfico 23). Os dois tipos de mel distribuem-se em ambos os PC's (negativo e positivo).



**Gráfico 23** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel da Beira Interior- Caramulo.

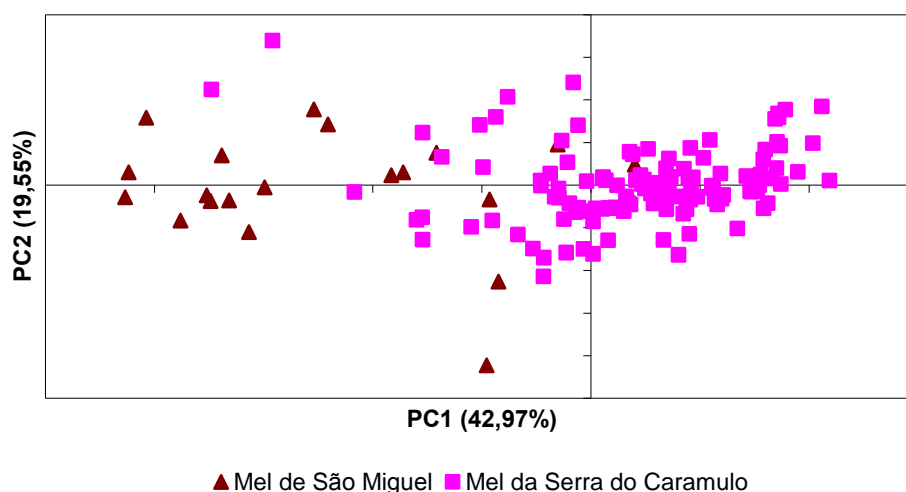


**Gráfico 24** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 –Serra das Beira Interior-Caramulo.

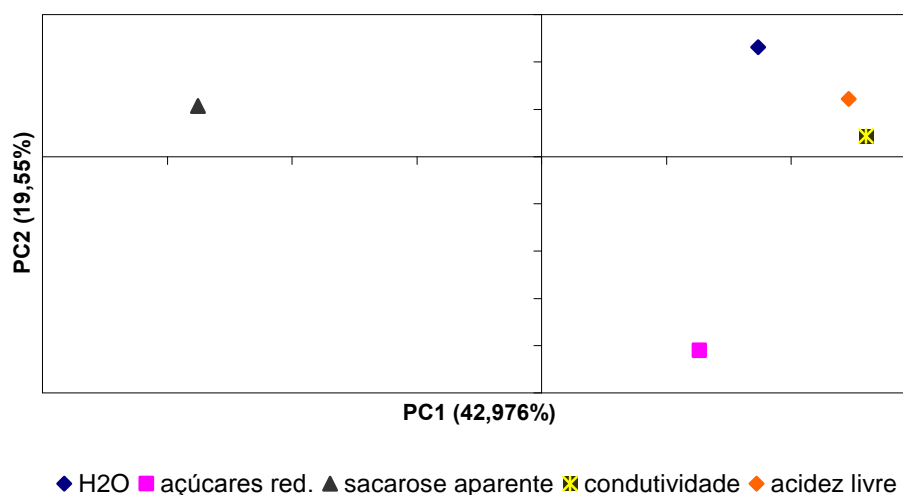
### 3.1.2.13 – Comparação do Mel da Ilha de São Miguel- Serra do Caramulo

A análise do gráfico das coordenadas factoriais (Gráfico 25), permite-nos concluir que a maioria das amostras do mel da Ilha de S. Miguel agrupam-se no PC1 negativo; em contrapartida, as amostras de mel da Serra do Caramulo distribuem-se no PC1 negativo e PC1 positivo, verificando-se uma maior concentração no PC1 positivo.

A informação do Gráfico das coordenadas factoriais vs contribuições factoriais, permite-nos verificar que a maioria das amostras do Mel da Ilha de São Miguel apresentam valores superiores em sacarose aparente.



**Gráfico 25** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel da Ilha de São Miguel- Caramulo.

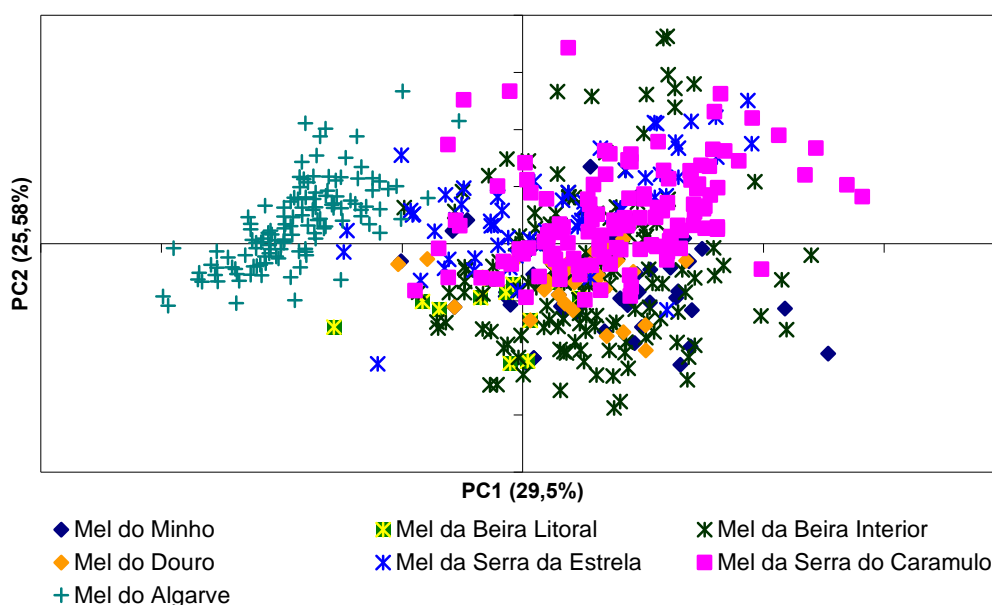


**Gráfico 26** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Ilha de São Miguel –Caramulo.

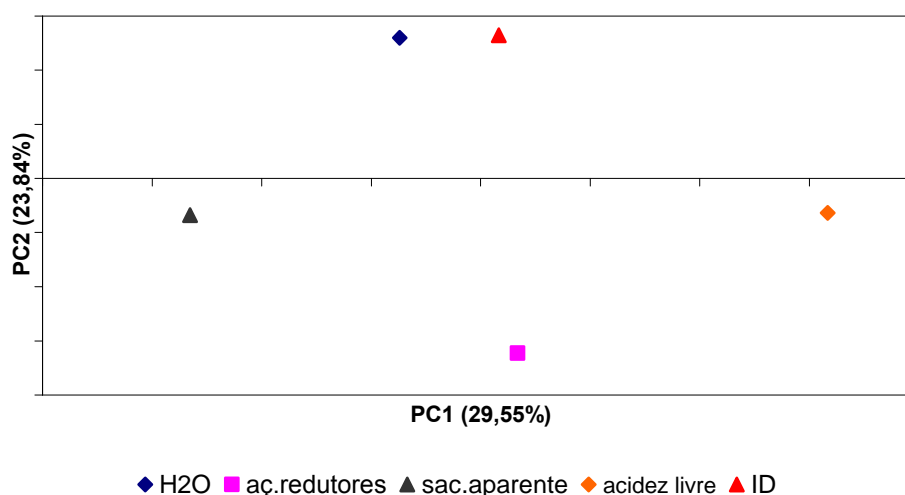
### 3.1.2.14 – Comparação de méis de diferentes regiões do País

No Gráfico 27 verificamos que apenas o grupo de mel do Algarve constitui um grupo distinto dos restantes méis. O mel da Beira Litoral agrupa-se no PC1 negativo (III Quadrante) e os restantes grupos de méis sobrepõem, não sendo nítida a sua separação.

Pela análise do gráfico das contribuições factoriais, concluímos que a separação do mel do Algarve se deve aos valores muito baixos, relativamente às outras amostras, dos parâmetros analisados: H<sub>2</sub>O, açúcares redutores, ID, acidez livre e sacarose aparente.



**Gráfico 27** - Coordenadas factoriais do PC1 com PC2 – Mel de diferentes regiões do país.



**Gráfico 28** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – Mel de diferentes regiões do país.

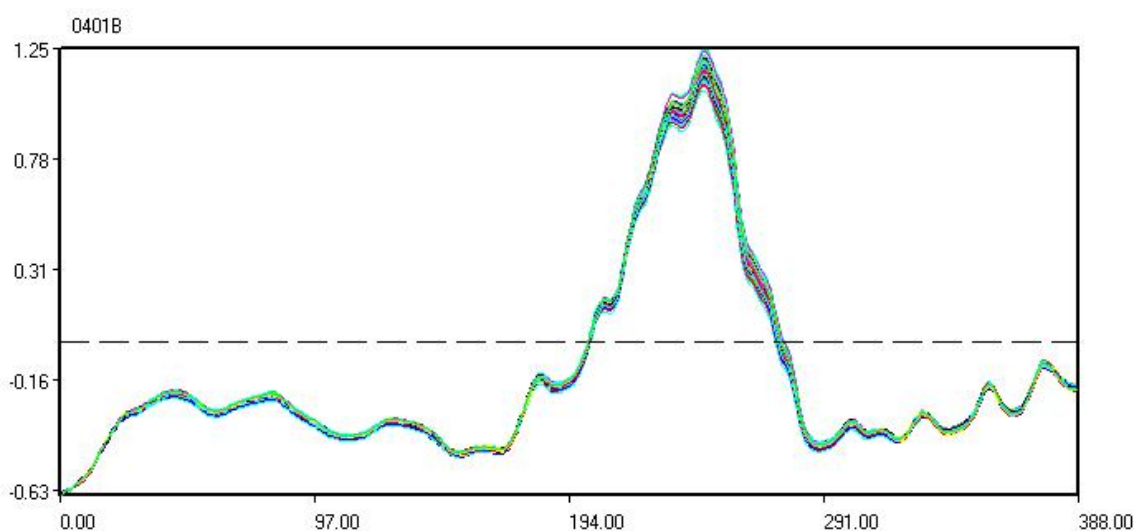
## 3.2 - Análises por FTIR

### 3.2.1 – Aquisição de espectros

Na análise de FT-IR, as interferências mais importantes que se encontraram no uso deste método, foram o vapor de água atmosférico e o dióxido de carbono atmosférico.

Foram estudadas diferentes regiões do espectro:  $4000-600\text{ cm}^{-1}$ ;  $3500-2800\text{ cm}^{-1}$ ;  $1800-1200\text{ cm}^{-1}$  e  $1500-750\text{ cm}^{-1}$ .

As principais diferenças entre as amostras verificaram-se na região do “fingerprint” - Gráfico 29 – representando a zona dos açúcares no mel.



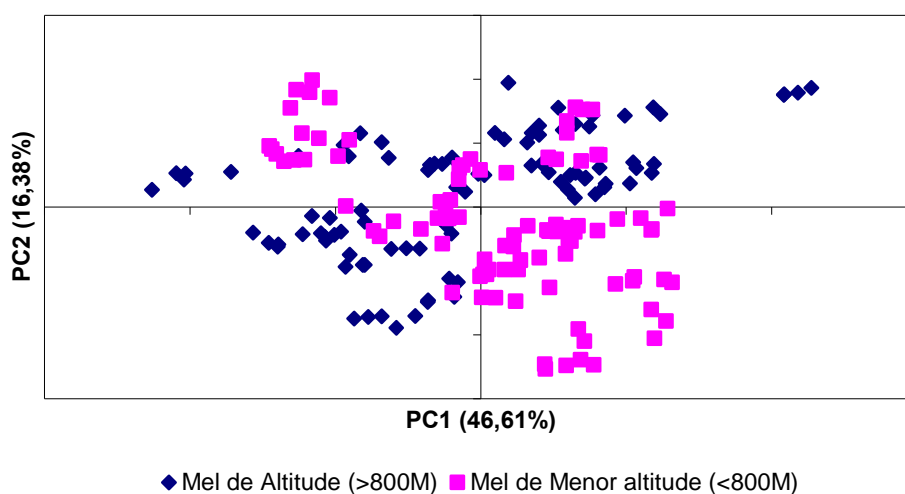
**Gráfico 29** – Espectros de amostras de mel , de 2004 na região de “fingerprint”  $1500-750\text{ cm}^{-1}$ .



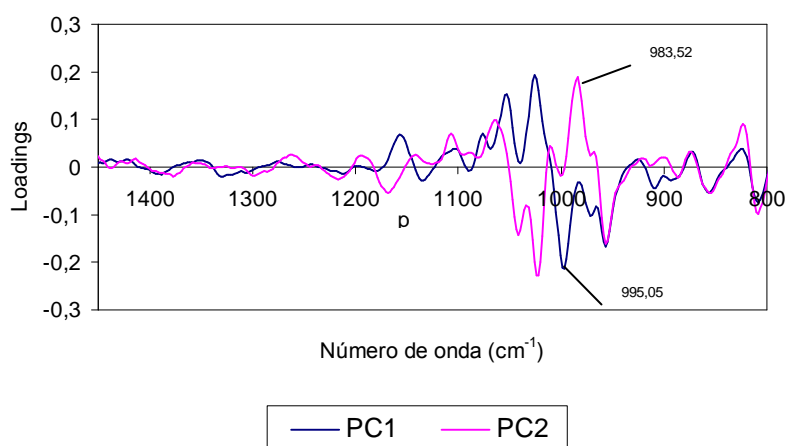
### 3.2.2 – Análise de Componentes Principais

No Gráfico 30 verificamos que uma grande parte das amostras de menor altitude encontram-se no positivo, não sendo visível a separação do grupo de altitude e menor altitude.

A informação do Gráfico das coordenadas factoriais vs contribuições factoriais, não nos permite tirar conclusões, de modo que será necessário confrontar esta técnica com análises físico-químicas.



**Gráfico 30** - Coordenadas factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2004.



**Gráfico 31** - Contribuições factoriais do PC1 e PC2 – amostras de 2004.

### 3.3– Conclusões

Todas as amostras de mel analisadas apresentaram-se como méis de néctar, possuindo características definidas na NP – 1307, Port. Nº 449/76.

As características palinológicas dos méis da Serra do Caramulo são: a predominância de pólen de *Ericacea* tipo *Erica* sp. – mel monofloral de urze, *Eucalyptus globulus* L. – mel monofloral de eucalipto, e as combinações *Ericacea* tipo *Erica* sp e *Eucalyptus globulus* L. – mel multifloral.

Mediante a Análise de Componentes Principais (PCA), foi possível identificar as características mais relevantes para os dois tipos de mel. Nos diferentes anos analisados (1999, 2000, 2001), verificamos que o mel monofloral de eucalipto possui valores superiores em açúcares redutores, sacarose, sacarose aparente e frutose; em contrapartida o mel monofloral de urze mostrou ter valores superiores em condutividade, H<sub>2</sub>O, pH, cinzas, glucose, IF e acidez livre.

A discriminação de méis monoflorais, recorrendo ao método de PCA, depende da representatividade da amostragem – quanto maior for o número de amostras, maior será o poder discriminatório deste método.

Por outras palavras, podemos dizer que o método de PCA, após controlo qualitativo do mel, permite a caracterização de méis monoflorais de *Eucalyptus globulus* L. e *Ericacea* ( tipo *Erica* sp.). Para isso é necessário uma amostragem significativa e controlada destes dois tipos de mel.

A falta de informação relativa à data de amostragem e de extracção do mel, condicionou a interpretação da variabilidade de alguns parâmetros muito dependentes do grau de envelhecimento e da forma de conservação do mel, como por exemplo o Índice Diastásico (ID) e HMF.

É de salientar as discrepâncias de valores nas amostras de 1998, 1999, 2000, 2001 com as amostras de 2002, ano em que ocorreu mudança de laboratório, o que nos leva a supor a ausência de uniformidade de critérios de análise entre os dois laboratórios.

Com base na Análise por Componentes Principais (PCA), foi possível comparar méis de diferentes regiões do país: verificou-se que o mel da Serra do Caramulo, em relação a algumas regiões, possui características distintas, nomeadamente com o mel do Algarve, Minho e Douro. Em relação a regiões mais próximas da Serra do Caramulo,

como sejam a Beira Interior e Serra da Estrela, não se verificou a separação destes tipos de mel.

O mel do Algarve, relativamente a outros méis do país, possui valores inferiores em sacarose, H<sub>2</sub>O, açúcares redutores e condutividade.

Relativamente aos resultados das análises realizadas por FT-IR, estes não foram conclusivos, obrigando estes resultados a serem confrontados, no futuro, com análises físico-químicas ao mel.

A caracterização e tipificação de um mel de uma região não passa só pelos resultados de parâmetros analíticos fixados pela Legislação Nacional e Comunitária - são necessárias técnicas que permitam extrair informação (PCA), e fornecer informação adicional (FTIR).

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] Accorti, M.; Piazza, M.G.; Persano Oddo, L. - La conductivité électrique et le contenu en cendre du miel, 1987 (22), 19-20.
- [2] Aljadi, A.M.; Kamaruddin, M.Y. – Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.*, 2004 (85), 513-518.
- [3] Allissandrakis, E.; Daferera, D.; Tarantilis, P.A.; Polissiou, M.; Harizanis, P.C. - Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey, *Food. Chem.*, 2003 (82), 575-582.
- [4] Al-Mamary, M.; Al-Meri, A.; Al-Habori, M. - Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Food Chem.*, 2005 (91), 313-317.
- [5] Amiot, M.J.; Aubert, S.; Gonnet, M.; Tacchini, M. - Phenolic composition of honeys: preliminary study on identification and group quantification. *Apidologie*. 1989 (20), 115-125.
- [6] Andrade, P. - Tipificação de méis de *Erica* sp. da Região da Serra da Lousã, tese de doutoramento, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 1995.
- [7] Andrade, P.B.; Roque, O.L. e Cunha, P. - Characterization of portuguese honeys by their phenolic acids composition. *Polyphen. Actual.*, 1994 (11), 52.
- [8] Andrade, P.; Ferreres, F.; Amaral, M.T. - Analysis of honey phenolic acids by HPLC, its application to honey botanical characterization, *J. Liquid Chromatogr. Rel. Technol.* 1997 (20), 2281-2288.
- [9] Andrade, P.; Ferreres, F.; Gil, M.I. - Tomas Barberan, F.A.. Determination of phenolic compounds in honey with different floral origin by capillary zone electrophoresis. *Food Chem.* 1997 (60), 79-84.
- [10] Anklam, E. - A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem.*, 1988 (63), 549-562.

- [11] Antony, S. M.; Han, I.Y.; Rieck, J.R. & Dawson, P.L. Antioxidantive effect of Maillard reaction products formed from honey at different reaction times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000 (48), 3985-3989.
  
- [12] Arias, V.C.; Castells, R. C.; Malacalza, N.; Lupano, C.E.; Castellás, C. B. - Determination of oligosaccharide Patterns in honey by Solid-Phase Extration and High-Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia*. 2003 (58), 797-801.
  
- [13] Azaredo, L.C.; Azaredo, M.A.A.; Souza, S. R.; Dutra, V.M.L. - Protein contents and physicochemical properties in honey samples of different floral origins. *Food Chem..* 2003 (80), 249-254.
  
- [14] Barros, A. - Contribution à la sélection et la comparaison de variables caractéristiques. 1999. Tese de Doutorado. *Instituit National Agronomique Paris-Grignon*. Paris.
  
- [15] Beretta, G.; Granata, P.; Ferrero, M.; Orioli, M.; Facino, R. M. – Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 2005 (533), 185-191.
  
- [16] Battaglini, M.; Bosi, G. - Recherche comparatives sur la nature des glucides de quelques miels inifloraux et de leur nectar. *Bull. Scientifique de l'Apimondia*, 1972.
  
- [17] Bogadanov, S.; Martin, P.;. Honey authenticity: a review. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 2002 (93), 232-254.
  
- [18] Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Oddo, L.P. - Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*. 2004 (35), 4-17.
  
- [19] Bosi, G.; Battaglani, M. - Gas analysis of free and protein amino acids in some unifloral honeys, *J. Apic. Res.* 1978 (17), 152-166.

- [20] Bouseta, A.; Collin, S.; Dufour, J.P.. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic headspace GC-MS system. *J. Apic. Res.* 1992 (31), 96-109.
- [21] Bouseta, A.; Scheirmain, V.; Collin, S. - Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honey. *J. Food Sci.* 1996 (61), 683-687.
- [22] Brereton, R. - Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst*, 2000 (125), 11, 2125-2154.
- [23] Campos, M.G.R. (Et AL.) – Characterisation of flavonoids in the three hive products.: bee pollen, propolis and honey. *Plant. Med.* 1990, (56), 580-581.
- [24] Cepurnoi, I. Determination of honey quality. Agricultural Cooperative Institute of Stawropol, *Kavkazkij Krai*, p.52 (Russian).
- [25] Chandler, B.V. – Quality of Australian honeys. *Food Res.*, 1977 (37), 1-9.
- [26] Codex Alimentarius Commission – Recommended European standard for honey. CAC/RS- 12. *Jt. FAO/WHO Food Stand. Program. Rome*. Reprinted in Bee World. 1969, Vol. Nº 51 (1970).
- [27] Coimbra, M. A. ; Barros, A.; Rutledge, D. N.;& Delgadillo, I. - FTIR spectroscopy as a tool for the analysis of olive pulp cell-wall polysaccharide extracts. *Carbohydrate Reacharch*. 1999, 317, 145-154.
- [28] Coimbra, M. A. ; Delgadillo, I.; Waldron, K. W.; Selvedran, R. R. - Isolation and analysis of cell wall polymers from olive pulp. *Modern Methods Plant Anal.* 1996b, 17, 19-44.
- [29] Cordella, C.; Militao, J.S.L.T. Clément, M.C.; Cabrol-Bass, D. Honey characterisation and adulteration detection by pattern recognition applied on HPAEC-PAD profiles. Honey floral species characterisation, *J. Agric. Food Chem.*, 2003 (51), 3234-3242.

- [30] Costa, M. - Contribuição para a caracterização do mel do Parque Arqueológico do Vale do Côa. *Relatório final de estágio, U.T.A.D.*, Vila Real, 1999.
- [31] Cotte, J.F.; Casabianca, H.; Chardon, S.; Lhertier, J.; Grenier-Loustalot, M.F. - Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity. *Journal of Chromatography A*. 2003, 1021, 145-155.
- [32] Crane, E. – Honey. A comprehensive survey. 3 ed.. *London. Heinemann*. 1979.
- [33] Cremer, E.; Rieddmann, H. – Identification of the gas-chromatographically separated aromatic materials of honey. *Z. Naturforsch*, 1964 (19b), 76-77.
- [34] Davies, A.M.C. Amino acid analysis of honeys from eleven countries, *J. Apic. Res.* 1975 (14), 29-39.
- [35] Davies, A.M.C.; Harris, R.G.. Free amino acid analysis of honeys from England and Wales; application to the determination of the geographical origin of honey. *J. Apic. Res.* 1982 (21), 168-173.
- [36] Devillers, J.; Morlot, M.; Pham-Delégue, M.H.; Doré, J.C. - Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chem.* 2004, 86, 305-312.
- [37] Doner, L. W. - The sugar of honey – A review. *J. Sci. Food Agr.* 28, 1977, 443-456.
- [38] Duarte, I.F; Barros, A.; Delgadillo, I; Almeida, C.; Gil, A. M. - Application of FTIR Spectroscopy for the quantification of Sugars in mango Juice as a function of ripening, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3104-3111.
- [39] Eldelmann, A.; Diework, J.; Schuster, C. K. & Lendl, B. - Rapid method for discrimination of red wine cultivars based on mid-infrared spectroscopy of phenolic wine extracts. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 1139-1145.



- [40] Fallico, B.; Zappalá, M.; Arena, E.; Verzera, A. - Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chem.* 2004, 85, 305-313.
- [41] Ferreira, M.R.P. e Ferreira, M.A: - Ensaio de estabilidade do mel. *Rev. Port. Farm.*, 1989, 39:3, 113-118.
- [42] Ferreira, M. R. P. M. - Estudo da evolução da qualidade de um mel de Paços de Ferreira. Prova de aptidão pedagógica e científica. *Faculdade de Farmácia do Porto*, 1988.
- [43] Ferreres, F. (Et Al.) – Na HPLC technique for flavonoid analysis in honey. *J. Sci. Food. Agric.*, 1991 (56), 49-56
- [44] Ferreres, F.; Andrade, P.; Tomas-Barberan, F.A.; Flavonoids from Portuguese heather honey. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1991, 32-37.
- [45] Ferreres, F.; Garcia-Viguera, C.; Tomas-Lorente, F.; Tomas-Barberan, F.A – Hesperetin, a marker of the floral origin of citrus honey. *J. Sci. Food Agric.* 1993, (61), 121-123.
- [46] Geladi, P. - Some recent trends in the calibration literature. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* 2002, (60), 211-224.
- [47] Gil, M.I.; Ferreres, F.; Ortiz, A.; Subra, E. & Tomas-Barberan, F.A. – Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002 (50), 5870-5877.
- [48] Godinho, M.M. – O Plutonito do Caramulo: contribuição para o seu conhecimento. *Dissertação apresentada para obtenção do grau de doutor na Universidade de Coimbra.* Coimbra, Museu e Laboratório Mineralógico e geológico. 1980. 348 pg.
- [49] Gonnet, M. e Aubert, S. – Mesure de la couleur des miels. *Apidologie.* Vol. nº 14 (1983) 105-118.

- [50] Gonnet, M. - Le miel, histoire et recherche. *IRA, mensuel* nº50, 32-40, 1980.
- [51] Gonnet, M. e Vache, G. - Le Gout du miel. *Edition U.N.A.F*, Paris, 1985.
- [52] Goodall, I.; Dennis, M. J.; Parker, I.; Sharman, M. - Contribution of high-performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates to authenticity testing of honey. *Journal of Chromatography A.* 1995, 706, 353-359.
- [53] Gonzales, A. P.; Burin, L.; Buera, M. P. - Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*. 1999, 32, 185-191.
- [54] Iglesia, F.; Lázaro, F.; Puchades, R.; Maquieira, A. - Automatic determination of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) by a flow injection method. *Food Chem.* 1997, Vol. 60, nº 2, 245-250.
- [55] Inoue, K.; Murayama, S.; Seshimo, F.; Takeba, K.; Yoshimura, Y.; Nakazawa, H. - Identification of phenolic compound in manuka honey as specific superoxide anion radical scavenger using electron spin resonance (ESR) and liquid chromatography with colometric array detection. *J. Sci. Food Agric.* 2005 (85), 872-878.
- [56] Johnson, R.A.; Wchern, D.W. - Applied multivariate statistical analysis. 1998, *Prentice-Hall, Inc.*, New Jersey.
- [57] Kalábová, K.; Vorlová, L.; Borkovcová, I.; Smutná, M.; Vecerek, V. - Hydroxymethylfurfural in Czech honeys. *Czech J. Anim. Sci.* 2003, 12, 551-557.
- [58] Kellner, R.; Mermet, J.M.; Otto, M.; Widner, H.M. - Analytical Chemistry – The approved text to the FECS curriculum analytical Chemistry. 1998. *WILEY-VCH*, Weinheim, Germany.
- [59] Kraag, B. L.; Hedtke, C.; Bienefeld, K. - Infrared spectroscopy in routine quality analysis of honey. *Apidologie*. 2002, 33, 327-337.

- [60] Lachenal, G. - Introduction à la spectroscopie infrarouge. IN : La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. Bertrand, D.; Dufour, E.; coord. 2000. *Collection sciences & Technologies agroalimentaires*. Editions tec&doc, Paris.
- [61] Louveaux, J. - Le miel. *Cach.Nutr. Diét.* Vol. N° 20: 1 (1985) 57-70.
- [62] Low, N.H. (Et Al.) – Carbon-13 nuclear magnetic resonance for the qualitative and quantitative analysis of structurally similar disaccharides. *J. Agric. Food Chem.* 36 (1988), 953-957.
- [63] Manly, B.F.J. - Multivariate Statistical Methods. A primer (2<sup>nd</sup> edition). 1997; *Chapman & Hall*. Gordon
- [64] Mazzoni, V.; Bradesi, P.; Tomi, F.; Casanova, J. - Direct Qualitative and quantitative analysis of Carbohydrate mixtures using <sup>13</sup>C NMR Spectroscopy: Application to honey. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 1997 (35), S 81-90.
- [65] Meda, A.; Lamien, C.E.; Romito, M.M Millogo, J.; acoulma, O.G. – Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 2005 (91), 571-577.
- [66] Mendes, E.; Proença, E. B.; Ferreira, I.M.P.L.V.O.; Ferreira, M.A. - Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydrate Polymers*.1998, 37, 219-223.
- [67] Mel. Definição, Classificação e Características – Norma Portuguesa Definitiva – 1307. Port. n° 449/76 de 24 de Julho de 1976.
- [68] Molan, P.C. – The antibacterial activity of honey.1: The nature of antibacterial activity. *Bee World*.1992 (73), 5-28.
- [69] Moreira, R.F.A – Glicídios no mel. *Quim. Nova*, 2001 (24), 516-525.
- [70] Nordin, P. – Monitoring of carbohydrates with periodate in effluents from HPLC columns. *Anal. Chem.*, 1993 (65), 948-951.

- [71] Oddo, L.P.; Baldi, E. e Accorti, M. – Diastase activity in some unifloral honeys. *Apidologie*, 1990 (21), 17-24.
- [72] Paradkar, M. M.; Irudayaraj, J. - Discrimination and classification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy. *Food Chem.* 2001, 76, 231-239.
- [73] Pereira, J.F.S. – A Serra do Caramulo: desintegração de um espaço Rural. *Dissertação de doutoramento em geografia humana para obtenção de grau de doutor*. Faculdade de Letras da Universidade de Coimbra, 1988 , 506 pg.
- [74] Perkins, W.D.; Fourier Transform – Infrared Spectroscopie: Part I – Instrumentation. *Journal of Chemical Education*, 1986, (63), 1, A5-A16.
- [75] Pinto, R. - Aplicação de métodos multivariados para análise por espectroscopia de Infravermelho em amostras alimentares. *Tese de mestrado*. 2002. Departamento de Química da Universidade de Aveiro.
- [76] Proença da Cunha, A. – Controle de qualidade e tipificação de méis. *Aldeia 92* (1992), 25-28.
- [77] Popek, S. - A procedue to identify a honey type. *Food Chem.* 2002, 79, 401-406.
- [78] Qui, P.Y.; Ding, H.B.; Tang, Y. K.; Xu, R. J. - Determination of chemical composition of commercial honey by Near-Infrared Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 2760-2765.
- [79] Qui, P.Y.; Ding, H. B.; Tang, Y. K.; Xu, R. J. - Determination of Chemical composition of comercial honey by Near-Infrared Spectroscopy, *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 2760-2765.
- [80] Rocha, A.M.M. - Contribuição ao estudo da produção de Mel pela abelha (*Apis mellifera* L.) na região de Bragança, *Tese de mestrado em Ecologia aplicada, Fac. de Ciências da universidade do Porto*, 1996.

- [81] Sancho, M.T. (Et Al.) – Aging of honey. *J. Agric. Food Chem.* 1992 (nº40), 134-138.
- [82] Sancho, M.T. (Et Al.) – Mieles del País Vasco. *Anal. Brom.*, vol. Nº 43 (1991), 162-324.
- [83] Sancho, M.T.O. – Estudio de las mieles producidas en la comunidad autonoma del Pais Vasco. Santiago de Compostela.: *Tese de doutoramento. Faculdade de Farmacia*, 1990.
- [84] Sanz, M. L.; Gonzalez, M.; Lorenzo, C.; Sanz, J.; Castro, I. M. - A contribution between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem.* 2005, 91, 313-317.
- [85] Serrano, S.; Villarejo, M.; Espejo, R.; Jodral, M. -Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chem.* 2004, 87, 619-625.
- [86] Serra Bonvehí, J. - Propriétés physico-chimiques. Composition et Spectre pollinique des miels de *Lavandula latifolia* Med. Produits en Espagne. *Science des aliments*, 1987, 8 : 295-307.
- [87] Soria, A. C.; Gonzalez, M.; Lorenzo, C.; Castro, I.M.; Sanz, J. - Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatili composition data, *Food Chem.*..2004, 85, 121-130.
- [88] Tomás-Barbéran, F.A (Et Al.) –High-performance liquid chromatography of honey. *J. Chromatogr.*, 1984 (315), 101-109.
- [89] Tomás-Barbéran, F.A (Et Al.) – Flavonoid as biochemical markers of the plant origin of bee pollen. *J. Sci. Food Agric.* 1989 (47), 337-340.
- [90] Terrab, A.; Díez, M.J.; Heredia, F. J. - Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chem.* 2002, 79, 373-379.

- [91] Terrab, T.; Heredia, F.J. - Characterisation of avocado (*Persea americana* Mill) honeys by their physicochemical characteristics. *J. Sci Food Agric.* 2004, 84, 1801-1805.
- [92] Tosi, E.A.; Ré, E.; Lucero, H.; Bulacio, L. - Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 2004, 37, 669-678.
- [93] Turkmen, N.; Sari, F.; Poyrazoglu, E.S.; Veloiglu, Y.S. – Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem.* 2005
- [94] Vander-Hagen, A.M. e Yolton, D.P. Kaminski, M.S e Yolton, R. L. – Free radicals and antioxidant supplementation: a review of their roles in age related macular degeneration. *J. Am. Optom. Assoc.* 1993 (64), 871-878.
- [95] Weston, R.J.; Brocklebank, L.K. e Lu, Y. – Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys, *Food Chem.* 2000 (70, 427-435.
- [96] White, J.W., Jr., Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63, 11-18, 1979.
- [97] White, J.W. - Hydroxymethylfurfural, content of honey as an indicator of its adulteration with invert sugar. *Bee World*, 61, 1982, 29-47.
- [98] White, J.W. - Wiley led the way: A century of federal honey research. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, Vol. 70, 1987.
- [99] White, J.W. – Honey. *Adv. Food Res.*, vol. N° 24 (1978), 278-374
- [100] Zappala M., Fallico B., Arena E., Verzera A. - Methods for the determination of HMF in honey: a comparison, , *Elsevier*, 2004.

# ANEXOS

# Ano de 2002

Parâmetros/ amostras	01/DN	02/DN	03/DN	04/DN	05/DN	06/DN	07/DN	08/DN	09/DN	10/DN	11/DN	12/DN	13/DN	14/DN	15/DN	16/DN	17/DN	18/DN	019/DN
cor	âmbar	âmbar claro	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar claro	âmbar claro	âmbar	âmbar muito claro	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar escuro	âmbar
consistência	fluido	fluido	fluido mt. fluido	fluido	fluido	fluidoted.e sp.	fluido	fluido	fluido	muito fluido	cristalizad o	fluido.ted. crist.	fluido.ted. crist.	fluido.ted. crist.	fluido.ted. crist.	cristalizad o	fluido	fluido ted.esp.	fluido ted.esp.
água	15,90	16,90	17,80	16,70	18,00	15,50	15,50	15,70	20,50	13,90	18,40	16,10	15,60	19,30	16,90	16,60	16,80	19,20	16,60
açúcares redutores	79,00	78,10	74,80	71,70	75,03	68,50	74,80	75,40	77,60	68,60	73,50	62,10	60,80	73,20	57,20	72,40	67,10	71,10	75,90
sacarose aparente	2,50	2,30	8,60	6,00	6,50	5,30	5,60	9,60	0,60	0,56	10,40	2,80	13,10	9,40	11,60	4,00	4,40	9,10	7,90
frutose	36,10	38,50	39,00	42,40	40,60	40,10	40,50	41,00	41,10	42,90	44,80	43,30	40,50	39,70	39,70	39,80	40,20	38,70	44,90
glucose	28,40	34,40	31,80	30,80	29,20	32,30	32,30	33,50	31,90	29,70	30,30	32,10	27,90	29,40	28,90	29,40	27,50	27,50	28,20
sacarose	0,50	0,40	0,30	0,00	0,00	0,30	0,20	0,00	0,80	0,00	0,30	1,00	0,00	0,60	0,20	0,20	0,00	0,00	0,00
condutividade	4,49	3,92	5,70	4,79	3,82	4,22	4,92	4,58	4,26	4,65	4,84	4,30	4,94	4,98	6,25	6,82	4,32	4,55	4,55
cinzas totais	0,19	0,26	0,13	0,51	0,08	0,01	0,25	0,14	0,23	0,27	0,19	0,27	0,35	0,13	1,73	0,38	0,21	0,12	0,22
cinz. solúveis	0,19	0,08	0,04	1,14	0,08	0,01	0,04	0,14	0,03	0,09	0,11	0,13	0,27	0,13	1,60	0,21	0,21	0,08	0,20
Cinz. insolúveis	0,00	0,18	0,09	0,73	0,01	0,00	0,22	0,00	0,20	0,18	0,08	0,14	0,08	0,00	0,13	0,17	0,00	0,04	0,02
alcal. cinz.totais	3,93	4,46	5,04	5,28	3,45	8,36	3,52	4,10	2,32	5,15	3,15	3,72	3,97	3,55	3,14	7,28	6,30	3,57	6,52
alcal. cinz. solúveis	1,24	9,52	0,23	6,90	6,31	2,28	0,25	0,27	6,90	6,65	4,72	4,51	6,49	2,22	3,54	1,39	1,91	2,66	1,98
alcal. cinz. insolúveis	0,00	5,79	3,02	4,23	0,00	4,20	2,01	0,00	1,23	6,37	2,56	4,73	5,59	0,00	6,37	4,44	0,00	2,84	2,72
cinzas sulfatadas	0,33	0,32	0,28	0,48	0,30	0,20	0,26	0,29	0,37	0,32	0,34	0,41	0,34	0,40	0,36	0,49	0,49	0,40	0,29
subst. Insolúveis água	0,03	0,06	0,07	0,07	0,56	0,10	0,32	0,02	0,02	0,04	0,15	0,16	0,14	0,06	0,12	0,18	0,03	0,09	0,11
pH	4,20	4,20	3,90	4,30	4,20	4,20	4,20	4,30	4,20	4,30	4,50	4,40	4,40	4,10	4,50	4,50	4,20	4,20	4,50
acidez livre	20,88	21,95	36,63	29,02	24,02	17,86	20,40	26,59	24,97	27,98	21,83	27,76	24,21	31,15	22,78	33,28	25,77	22,83	35,41
acidez lactônica	8,45	6,97	5,28	5,52	6,13	2,75	4,36	6,95	7,34	0,63	4,19	1,64	0,39	8,36	5,54	0,43	9,64	5,02	4,44
acidez total	29,34	28,51	41,91	34,54	30,15	20,60	24,76	33,54	32,31	28,61	26,02	29,40	24,60	39,52	28,32	33,71	35,41	27,84	39,85
índice de formol	0,60	0,50	1,46	1,09	1,36	1,17	0,76	1,23	1,24	0,95	1,09	1,19	0,90	0,47	0,67	0,90	1,14	0,76	1,06
Índice diastásico	27,00	31,00	42,00	50,00	32,00	30,00	24,00	67,00	30,00	32,00	27,00	29,00	38,00	30,00	50,00	20,00	27,00	31,00	32,00
hidroximetilfurfural	9,70	5,90	9,00	9,60	3,80	5,90	3,00	2,60	6,90	4,70	5,60	2,10	5,00	14,10	2,80	5,90	11,40	7,60	3,90
açúcares totais	81,50	80,40	83,40	78,00	82,10	84,10	80,40	85,60	78,20	69,20	84,50	64,40	74,60	83,10	69,40	76,50	71,72	80,70	84,20
Local	Alcofra	Caramulo	F. Monte	Queirã	Reigoso	S. de Lafões	S. João da Serra	Santiago Besteiros	S. João do Monte	Castelões	Candal_Gr.	Covas do Rio	Manhouce	Gralheira/P. Milagres	Gralheira/S. M. Moitas	Gralheira/S. C. Trapa	Gralheira/S. errazes	Gralheira/S. ul	Gralheira/C abril



## Mel de 1998

[illegible]

### Mel de 1998

Parâmetros/ amostras	98D17	98D18	98D19	98D20	98D21	98D22	98D23	98D24	98D25	98D26	98D27	98D28	98D29	98D30	98D31	98D32
água	17,5	18,1	16,9	18,1	16,9	17,3	16,8	17,8	16,8	16,6	18	17,3	17,7	17,3	16,8	17
açúcares redutores	68,15	70,27	73,79	71,35	69,34	67,61	72,74	75,64	72,12	66,61	70,78	72,15	71,64	73,67	72,95	73,21
sacarose aparente	2,62	6,9	1	1,65	5,66	5,85	0,48	1,72	1,68	5,46	2,38	0,36	0,59	0,5	2,53	3,76
cinzas totais	0,31	0,32	0,46	0,4	0,48	0,46	0,5	0,37	0,39	0,36	0,39	0,31	0,42	0,38	0,26	0,4
acidez total	33,2	41,79	39,4	43,49	49,11	54,7	42,9	44,11	37,68	39,74	50,83	40,04	39,14	37,56	41,93	40,52
Índice de formol	0,81	1,05	1,08	1,25	0,97	1,93	1,44	1,49	1,25	1,01	1,46	1,2	1,35	1,09	1,72	1,16
Índice diastásico	15	25	25	18	28	28	24	22	29	22	28	30	34	27	23	26
hidroximetilfurfural	12,87	14,06	8,38	32,3	21,55	11,07	21,09	15,25	10,91	16,61	13,62	5,38	7,04	7,33	12,27	10,33
Pólen predominante		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (58,4%)							<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (48,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (51,9%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (84,1%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (52,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (60,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (55,3%)		
Pólen secundário			tipo <i>Erica</i> sp. (35,8%); <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L.	tipo <i>Erica</i> sp. (26,3%); <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L.	tipo <i>Erica</i> sp. (20,5%); <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L.	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (12,8%)		tipo <i>Erica</i> sp. (16,4%); <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L.							<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (20,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (43,5%)
Pólen minoritário		<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (4,2%); <i>Thymus</i> (4,2%)				<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (6,5%);	tipo <i>Erica</i> sp. (5,6%); <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (5,6%)		<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (3,6%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (5,6%)				<i>Cistus</i> <i>ladinifer</i> L. (3%)		

### Mel de 1998

Parâmetros/ amostras	98D33	98D34	98D35	98D36	98D37	98D38	98D39	98D40	98D41	98D42	98D43	98D44	98D45	98D46
água	17,6	20,3	18,7	18,4	17,5	17,8	16,8	17,3	18,2	17,8	19,4	18,3	18,1	17,7
açúcares redutores	80,4	71,56	73,67	71,26	75,09	70,3	75,25	72,99	73,02	66,1	72,57	70,75	72,12	66,93
sacarose aparente	1,82	1,2	2,05	0,7	0,78	0,68	0,79	1,51	2,02	4,17	0,73	0,69	1,71	2,26
cinzas totais	0,36	0,31	0,31	0,37	0,41	0,38	0,24	0,28	0,35	0,3	0,41	0,31	0,38	0,44
acidez total	47,87	39,24	43,41	41,33	39,17	43,86	34,75	44,04	44,56	45,22	37,19	37,38	40,93	45,44
índice de formol	1,07	1,45	1,3	1,31	1,31	1,33	1,87	1,47	1,1	1,6	1,16	1,44	1,17	1,18
Índice diastásico	21	26	24	24	21	20	25	20	21	24	22	27	22	27
hidroximetilfurfural	23,49	5,24	9,88	7,47	7,63	17,63	8,38	7,63	10,03	6,73	23,5	10,18	14,51	10,93
Pólen predominante	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (45,6%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (62%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (77,1%)					<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (76,2%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (63,5%)			<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (64,5%)
Pólen secundário	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (20,6%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (37,6%)			<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (38,7%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (36,4%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (22,2%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (21,5%)		tipo <i>Erica</i> sp. (29,1%); <i>Cistus</i> <i>ladanifer</i> L. (13,7%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (20,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (38%); <i>Cistus</i> <i>ladanifer</i> L. (32,5%)	
Pólen minoritário		<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (4,2%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (6%)		<i>Cistus</i> <i>ladanifer</i> L. (3,7%)		<i>Cistus</i> <i>ladanifer</i> L. (3,3%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (5,4%)		<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (3,1%)				

### Mel de 1998

Parâmetros/ amostras	98D47	98D48	98D49	98D50	98D51	98D52	98D53	98D54	98D55	98D56	98D57	98D58	98D59	98D60
água	17,4	17	16,2	18,9	16,6	14,7	17,8	17,4	17,6	17	17,9	17,1	17,8	16,3
açúcares redutores	72,4	69,71	73,03	70,18	70,22	70,12	75,55	72,5	72,74	69,62	70,17	71,54	70,7	69,37
sacarose aparente	0,73	6,35	2,28	2,22	5,91	2,58	4,02	2,38	4,11	3,53	1,85	2,69	1,88	3,24
cinzas totais	0,36	0,39	0,22	0,37	0,27	0,28	0,28	0,32	0,32	0,31	0,31	0,31	0,37	0,28
acidez total	45,09	41,49	28,84	43,33	31,49	31,59	27,59	36,24	35,45	36,16	42,93	35,64	39,18	29,14
índice de formol	0,92	0,93	0,57	1,09	1,06	1,13	0,8	0,92	1,12	0,92	1,03	0,95	0,98	0,61
Índice diastásico	26	16	13	26	13	13	19	19	17	19	24	18	19	15
hidroximetilfurfural	20,93	15,1	20,5	18,41	18,41	23,78	16,76	21,71	26,63	30,23	17,36	20,21	29,78	17,36
Pólen predominante		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (67,7%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (85,6%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (100%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (100%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (65%)			<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (92,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (53,7%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (56,1%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (58,1%)
Pólen secundário	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (39,5%)	<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (20,7%)	tipo <i>Erica</i> sp. (19,7%); <i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L.		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (36,8%)				tipo <i>Erica</i> sp. (41,1%); <i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L.	tipo <i>Erica</i> sp. (41,1%); <i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L.				
Pólen minoritário	<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (6,1%)				<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (7,4%)			<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (3,6%)				<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (6,1%)	<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (3,1%)	<i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> L. (4,9%)

# Mel de 2001

Parâmetros/ amostras	01/AS	02/AS	03/AS	04/AS	05/AS	06/AS	07/AS	08/AS	09/AS	10/AS	11/AS	12/AS	13/AS	14/AS
COR	âmbar	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar	âmbar escuro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar ext. claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro
consistência	fluido	F,tendcrist.	fluido	fluido	fluido	fluido	F,tendcrist.	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido
água	16,4	18,72	17,56	15,68	17,45	19,6	16,84	17,96	16,8	18	16,86	18,36	17,56	16,8
açúcares reductores	73,38	68,75	74,69	71,84	73,63	69,94	73,74	71,17	73,56	73,17	74,23	71,57	72,65	70,26
sacarose aparente	2,14	0,87	2,62	0,83	1,38	1,82	1,26	3,88	0,62	0,49	1,53	1,91	0,6	0,34
frutose	34,4	36,62	36,15	34,68	38,33	33,56	36,19	39,65	39,53	35,54	39,7	39,44	38,44	38,03
glucose	27,97	29,38	27,56	28,92	28,72	25,18	25,8	25,53	27,41	24,58	27,75	28,17	28,24	27,35
sacarose	0	0	0,6	0,02	0	0,07	0	0,33	0	0,11	0,17	0,06	0	0
condutividade	5,5	6,9	5,8	7	5	6,4	4	6,1	3,3	4,7	4	3,8	3,7	4,1
cinzas totais	0,36	0,48	0,39	0,49	0,32	0,44	0,24	0,41	0,18	0,3	0,24	0,22	0,22	0,25
c.solúveis	0,27	0,36	0,29	0,37	0,24	0,33	0,18	0,31	0,14	0,23	0,18	0,17	0,17	0,19
cinzas insolúveis	0,09	0,12	0,1	0,12	0,08	0,11	0,06	0,1	0,04	0,07	0,06	0,05	0,05	0,06
alcal. cinz.totais	4,84	6,34	5,16	6,45	4,3	5,8	3,22	5,48	2,47	3,98	3,22	3,01	2,9	3,33
alcal. cinz. solúveis	3,48	4,56	3,72	4,64	3,1	4,18	2,32	3,65	1,78	2,87	2,32	2,17	2,09	2,4
alcal. cinz. insolúveis	1,36	1,78	1,44	1,81	1,2	1,62	0,9	1,53	0,69	1,11	0,9	0,84	0,81	0,93
cinzas sulfatadas	0,57	0,74	0,6	0,75	0,51	0,68	0,39	0,64	0,3	0,47	0,39	0,36	0,35	0,4
subst. Insol. água	0,089	0,142	0,076	0,529	0,071	0,175	0,019	0,004	0,011	0,012	0,009	0,015	0,017	0,015
pH	4,04	4,09	4,04	4,07	3,69	4,08	3,79	4,24	3,57	3,9	3,61	3,57	3,67	3,71
acidez livre	29,7	32,85	33,64	36,74	38,84	33,49	27,85	27,29	29,89	26,3	22,69	35,34	31,15	32,08
acidez lactônica	5,35	5,75	4,45	4,7	4,85	4,6	6,9	2,2	0,35	4,8	6,5	9,35	6,6	6,3
acidez total	35,05	38,6	38,09	41,44	43,69	38,09	34,75	29,49	30,24	31,1	29,19	44,68	37,74	38,38
índice de formol	1,25	1,07	1,09	1,24	1,19	1,15	0,89	1,13	0,61	0,94	0,66	1,07	1,06	1,21
Índice diastásico	27	19	24	23	48	28	21	19	17	21	23	17	20	30
hidroximetilfurfural	3,9	15,96	3,35	4,17	8,22	2,8	7,73	3,52	8,56	2,95	3,6	4,33	4,14	4,18
Pólen predominante		Ericaceae tipo <i>Erica</i> sp. (63,75%)	Ericaceae tipo <i>Erica</i> sp. (48,5%)	Ericaceae tipo <i>Erica</i> sp. (56,75%)	Ericaceae tipo <i>Erica</i> sp. (54,5%)			Castena sativa Miller 56,25%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (60%)	Castena sativa Miller (59,5%)				
Pólen secundário	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp.(41,5%), <i>Eucaliptus globulus</i> L. (23,25%)					<i>Eucaliptus globulus</i> L. (17,25%)	<i>Erica</i> sp. (36,75%), <i>Castena sativa</i> Miller (24,5%)	<i>Eucaliptus</i> (43,5%), <i>Castena sativa</i> (19,25%)		<i>Eucaliptus globulus</i> L. (27,5%)	<i>Castena sativa</i> (26,25%) <i>Eucaliptus</i> (27,5%)	<i>Castena sativa</i> (26,25%) <i>Eucaliptus</i> (35%)		<i>Castena sativa</i> (44,75%) <i>Eucaliptus</i> (20,25%)
Pólen minoritário													(3-15%) - Leguminosae	
Local	Alcofra - Vouzela	Cambra - Vouzela	Carvalhal das Vermilhas - Vouzela	Carvalhal das Vermilhas - Vouzela	Fornelo do Monte, Vouzela	Fornelo do Monte, Vouzela	Paços de Vilharigues, Vouzela	Ventosa - Vouzela	Ventosa - Vouzela	Campia - Vouzela	Fataunços - S. Pedro do Sul	Figueiredo da Donas, Queirã	S. Miguel do Mato	S. Miguel do Mato

# Mel de 2001

Parâmetros/ amostras	15/AS	16/AS	17/AS	18/AS	19/AS	20/AS	21/AS	22/AS	23/AS	24/AS	25/AS	26/AS	27/AS	28/AS
COR	âmbar escuro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar escuro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar claro	âmbar	âmbar claro	âmbar
consistência	F,tendrist.	fluido	fluido	mult.fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido a m. fluido	fluido	fluido	fluido	fluido, ted.esp.	fluido
água	18,36	17,2	18	20,16	16,97	17,52	17,85	17,52	17,32	16,76	16,36	19,57	17,46	18,36
açúcares reductores	68,21	71,2	72,12	71	73,63	72,83	69,89	73,39	74,15	72,73	71,68	71,82	75,66	71,57
sacarose aparente	1,73	1,4	1,94	0,46	1,38	2,75	1,82	0,87	1,01	1,47	2,02	1,29	1,05	1,17
frutose	38,6	34,2	35,92	35,9	39,32	36,11	37,24	40,21	41,12	39,06	36,11	36,87	38,54	37,97
glucose	27,44	24,76	27,09	24,39	27,88	25,71	24,21	28,97	28,44	27,49	24,21	27,16	28,31	27,25
sacarose	0,21	0	0	0	0,52	0,19	0	0	0	0,78	0,04	0	0	0
condutividade	7,6	5,4	4,7	4,5	3,3	3,6	4,5	3,7	4	3,5	3,7	4,6	4,9	6,5
cinzas totais	0,54	0,36	0,3	0,28	0,18	0,21	0,28	0,22	0,24	0,2	0,22	0,29	0,31	0,45
c.solúveis	0,41	0,27	0,23	0,21	0,14	0,16	0,21	0,17	0,18	0,15	0,17	0,22	0,23	0,34
cinzas insolúveis	0,13	0,09	0,07	0,07	0,04	0,05	0,07	0,05	0,06	0,05	0,05	0,07	0,08	0,11
alcal. cinz.totais	7,09	4,73	3,98	3,76	2,47	2,79	3,76	2,9	3,22	2,69	2,9	3,87	4,19	5,91
alcal. cinz. solúveis	5,1	3,41	2,87	2,71	1,78	2,01	2,71	2,09	2,32	1,94	2,09	2,79	3,02	4,26
alcal. cinz. insolúveis	1,99	1,32	1,11	1,05	0,69	0,78	1,05	0,81	0,9	0,75	0,81	1,08	1,17	1,65
cinzas sulfatadas	0,82	0,56	0,47	0,45	0,3	0,34	0,45	0,35	0,39	0,33	0,35	0,46	0,5	0,69
subst. Insol. água	0,158	0,028	0,005	0,049	0,013	0,02	0,007	0,017	0,004	0,029	0,137	0,113	0,081	0,08
pH	4,32	3,88	3,84	3,78	3,65	3,64	3,78	3,64	3,69	3,71	3,73	3,99	3,9	4,06
acidez livre	34,88	32,98	34,98	32,65	35,34	24,79	31,1	32,04	24,89	26,59	35,64	27,94	29,44	34,89
acidez lactónica	3,35	6,45	6,45	7,35	9,35	7,5	4,55	1,95	4,85	3,55	12,74	3,2	2,2	0,45
acidez total	38,23	39,43	41,43	40	44,68	32,29	35,64	33,99	29,79	30,14	48,38	31,14	31,63	35,34
índice de formol	1,17	1,19	1,28	0,71	1,07	0,78	1,19	1,13	0,95	0,84	0,65	1,06	0,85	1,1
Índice diastásico	41	35	28	8	19	16	24	22	20	13	15	22	19	16
hidroximetilfurfural	12,9	4,05	4,15	10,05	6,27	5,37	5,57	4,26	7,31	15,42	4,44	3,79		5,52
Pólen predominante	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp.(64,5%)			<i>Eucalyptus globulus</i> L. (55%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (73,75%)		<i>Castanea sativa</i> Miller (69%)			<i>Eucalyptus globulus</i> L. (45,55%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (52,75%, <i>Castanea sativa</i> (19,5%)			
Pólen secundário	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (17%)	<i>Castanea sativa</i> (21,5%) <i>Eucalyptus globulus</i> (20,75%)	<i>Castanea sativa</i> (21,5%) <i>Eucalyptus globulus</i> (20,75%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp.(13,5%), <i>Quercus</i> (9,5%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp.(7,75%), <i>Prunus</i> sp.(4,5%)	<i>Castanea sativa</i> Miller (39,5%), <i>Eucalyptus globulus</i> (42,75%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (10,75)	<i>Castanea sativa</i> (21%), <i>Eucalyptus globulus</i> (32,75%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (41,5%), <i>Ericaceae</i> (24,25%)	<i>Echium</i> sp (11,25%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (29,25%); <i>Eucalyptus globulus</i> L.(23%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (21%); <i>Eucalyptus globulus</i> L.(32,75%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (42,75%); <i>Castanea sativa</i> Miller (23%)
Pólen minoritário														
Local	Queirã, Vasconha	Queirã (Serra da Manga	Queirã - Alto Castro	Arca - Oliveira de Frades	Reigoso	Souto de Lafões	S. João da Serra	Caparrosa	Caparrosa	Santiago de Besteiros	Santiago de Besteiros	Caselho - Guardão	Castelões	Carvalhais

# Mel de 2001

Parâmetros/ amostras	29/AS	30/AS	31/AS	32/AS	33/AS	34/AS	35/AS	36/AS	37/AS	38/AS	39/AS	40/AS
COR	âmbar	âmbar escuro	âmbar	âmbar	âmbar escuro	âmbar branco	âmbar	âmbar	âmbar claro	âmbar escuro	âmbar	âmbar escuro
consistência	multo fluido	multo fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluidoinicocrit.	fluido	muito fluido
água	18,26	17,94	17,96	16,8	18,76	21,16	18,04	16,69	16,09	18,45	17,65	18,57
açúcares redutores	74,34	74,62	74,56	72,29	72,77	72,42	74,06	73,64	73,68	73,66	73,35	71,69
sacarose aparente	1,27	1,55	2,78	1,08	2,23	0,96	0,88	1,62	3,45	2,27	2,38	1,17
frutose	39,62	38,74	38,28	37,74	35,9	36,81	36,94	36,37	37,2	38,47	37,16	37,25
glucose	27,69	25,82	26,78	28,48	27,39	27,76	26,45	25,13	25,59	27,17	23,97	24,38
sacarose	0,09	1,32	0	0	0	0,02	0	0,62	0,8	0,16	0	0
condutividade	4,9	5,8	4,4	5,1	6,9	4,2	5,1	4,6	4	6,2	4,6	5,6
cinzas totais	0,31	0,39	0,24	0,33	0,48	0,26	0,33	0,29	0,24	0,42	0,29	0,37
c.solúveis	0,23	0,29	0,18	0,25	0,36	0,2	0,25	0,22	0,18	0,32	0,22	0,28
cinzas insolúveis	0,08	0,1	0,06	0,08	0,12	0,06	0,08	0,07	0,06	0,1	0,07	0,09
alcal. cinz.totais	4,19	5,16	3,22	4,41	6,34	3,44	4,41	3,87	3,22	5,59	3,87	4,94
alcal. cinz. solúveis	3,02	3,72	2,32	3,18	4,56	2,48	3,18	2,79	2,32	4,02	2,79	3,56
alcal. cinz. insolúveis	1,17	1,44	0,9	1,23	1,78	0,96	1,23	1,08	0,9	1,57	1,08	1,38
cinzas sulfatadas	0,5	0,6	0,39	0,52	0,74	0,41	0,52	0,46	0,39	0,65	0,46	0,58
subst. Insol. água	0,003	0,019	0,034	0,097	0,184	0,071	0,006	0,007	0,022	0,033	0,006	0,007
pH	3,56	3,71	3,62	3,95	4,15	3,59	3,85	3,63	4,05	3,99	3,73	3,93
acidez livre	38,48	39,78	34,49	34,93	31,64	34,74	36,04	40,09	20,04	34,59	32,99	36,69
acidez lactônica	9,45	8,55	0,55	0,35	2,8	3,6	0,55	11,15	4,9	4,35	5,1	4,8
acidez total	48,43	48,32	35,04	35,28	34,44	38,34	36,59	51,24	24,94	38,94	38,09	41,49
Índice de formol	1,23	1,4	1,13	0,69	1,16	0,54	1,15	1,21	1,03	1,29	1,13	1,36
Índice diastásico	17	21	15	21	27	17	27	30	26	26	23	30
hidroximetilfurfural	14,23	32,38	16,96	5,16	5,4	9,6	13,69	6,78	2,62	4,86	7,03	5,06
Pólen predominante	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (47%)			<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (46%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (56%)		<i>Castanea sativa</i> Miller (68,5%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (52,25%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (65%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (57,25%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (52%)	
Pólen secundário	<i>Castanea sativa</i> Miller (15%)	<i>Castanea sativa</i> Miller (15%); <i>Leguminosae</i> e (23,5%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (38%), <i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (23,75%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (39%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (29%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (44,25%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (15,5%)	<i>Castanea sativa</i> Miller (16%)	<i>Prunus</i> sp. (!2%)	<i>Castanea sativa</i> Miller (23,25%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (30%)	
Pólen minoritário												
Local	Sul	Sul	Covas do Rio - S. Pedro do Sul	Manhouce	Candal - S. Pedro do Sul	St. Cruz da Trapa	São Martinho das Moitas - S. Pedro do Sul	Pindelo dos Milagres	Arões	Cabreiros	Janarde - Arouca	Covelo de Paivô

# Ano de 1999

Parâmetros/ amostras	99D001	99D002	99D003	99D004	99D005	99D006	99D007	99D008	99D009	99D010	99D011	99D012	99D013	99D014
COR	âmbar	âmbar escuro	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar claro	âmbar claro	âmbar	âmbar	âmbar escuro
consistência	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido
água	17,34	17,66	17,02	17,02	17,38	16,62	18,14	16,18	16,38	17,14	17,54	15,98	17,94	16,38
açúcares redutores	72,84	72,85	73,05	74,8	75,98	72,9	73,32	72,12	73,38	71,7	71,72	72,28	61,89	73,38
sacarose aparente	1,24	1,24	1,37	1,17	1,08	1,24	1	0,73	1,79	2,44	0,97	1,77	2,01	1,79
condutividade	4,6	5	4,4	5	4,9	5,3	5,2	4,6	4,3	4,2	6,3	5,6	4,4	4,3
cinzas totais	0,29	0,32	0,27	0,32	0,31	0,25	0,34	0,29	0,26	0,26	0,43	0,37	0,27	0,26
c.solúveis	0,22	0,24	0,2	0,24	0,23	0,17	0,26	0,22	0,2	0,2	0,32	0,28	0,2	0,2
cinzas insolúveis	0,07	0,08	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,06	0,06	0,11	0,09	0,07	0,06
alcal. cinz.totais	3,87	4,3	3,65	4,3	4,19	2,4	4,51	3,87	3,55	3,44	5,7	4,94	3,65	3,55
alcal. cinz. solúveis	2,79	3,1	2,63	3,1	3,02	0,18	3,25	2,79	2,56	2,48	4,1	3,46	2,63	2,56
alcal. cinz. insolúveis	1,08	1,2	1,02	1,2	1,17	0,06	1,26	1,08	0,99	0,96	1,6	1,48	1,02	0,99
cinzas sulfatadas	0,46	0,51	0,44	0,51	0,5	0,4	0,53	0,46	0,42	0,41	0,67	0,58	0,44	0,42
subst. Insol. água	0,013	0,024	0,015	0,016	0,112	0,035	0,037	0,026	0,018	0,009	0,049	0,036	0,004	0,018
pH	4,28	4,22	4,21	4,28	4,3	4,5	4,31	4,26	4,4	4,15	4,41	4,38	4,22	4,4
acidez livre	28,74	31,75	28,69	29,55	29,2	27,32	31,34	24,65	27,89	27,89	21,75	26,89	28,94	27,89
acidez lactônica	2,7	5,35	4,45	4,9	5,35	1,45	3,75	6,2	4,89	4,89	0,1	3,35	5,05	4,89
acidez total	31,44	37,1	33,14	34,45	34,55	28,77	35,09	30,85	32,78	32,78	21,85	30,24	33,99	32,78
índice de formol	0,98	1,1	0,97	1,11	0,92	1,08	1,05	0,92	1,13	1,13	1,13	0,86	0,91	1,13
Índice diastásico	7	15	6	33	12	21	31	6	21	12	23	24	27	21
hidroximetilfurfural	15,12	22,47	26,17	23,64	17,8	16,01	36,21	33,67	38,31	13,61	13,17	33,51	35	38,31
Pólen predominante			<i>Eucaliptus globulus</i> sp. (52,3%)	<i>Eucaliptus globulus</i> sp. (45,3%)			<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> Sp. (60%)		<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (46,8%)					<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (88,3%)
Pólen secundário	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (41,5%), <i>Eucaliptus globulus</i> L. (25,5%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (44,1%), <i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (21,3%)	<i>Ericaceae</i> 11,8%, <i>Prunus</i> 5,8%	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (24%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (43,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (39,8%)		<i>Eucaliptus globulus</i> L. (39%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (33,5%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (22,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp.(24,5%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (43,3 %), <i>Eucaliptus globulus</i> L. (5,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (43,35%), <i>Eucaliptus globulus</i> L. (31,8%)	
Local	Campia	Campia	Rebordinho	Selores	Lousa		Caramulo	Matadegas	Fráguas	Povoa - Paranho de Arca	Guardão	Guardão	Covelo	Teixo - Coldas



# Ano de 1999

Parâmetros/ amostras	99D015	99D016	99D017	99D018	99D019	99D020	99D021	99D022	99D023	99D024	99D025	99D026	99D027	99D028	99D029	99D030
cor	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar	âmbar	âmbar claro	âmbar	âmbar	âmbar	âmbar claro	âmbar	âmbar	âmbar
consistência	fluido	fluido	fluido	espe,ini,crist.	fluido	fluido	fluido	fluido	Fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	espesso	fluido	fluido
água	16,38	16,38	16,38	16,38	16,38	16,85	16,95	16,1	16,62	17,38	16,63	16,34	18,02	16,78	15,9	17,26
açúcares redutores	73,38	73,38	73,38	73,38	73,38	59,59	61	70,62	72,9	70,31	73,04	65,16	72,06	71,2	71,99	69,54
sacarose aparente	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	4,23	2,14	1,18	1,24	2,85	0,75	5,87	2,72	2,29	1,73	4,04
condutividade	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,8	4,3	4,4	5,3	4,1	4,9	3,9	4	4,9	4,9	4,2
cinzas totais	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,31	0,26	0,27	0,25	0,25	0,31	0,23	0,24	0,31	0,31	0,26
c.solúveis	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,23	0,2	0,2	0,19	0,19	0,23	0,17	0,18	0,23	0,23	0,2
cinzas insolúveis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,08	0,06	0,07	0,06	0,06	0,08	0,06	0,06	0,08	0,08	0,06
alcal. cinz.totais	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	4,08	3,55	3,65	2,4	3,33	4,19	3,12	3,22	4,19	4,19	3,44
alcal. cinz. solúveis	2,56	2,56	2,56	2,56	2,56	2,94	2,56	2,63	0,19	2,4	3,02	2,25	2,32	3,02	3,02	2,48
alcal. cinz. insolúveis	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	1,14	0,99	1,02	0,05	0,93	1,17	0,87	0,9	1,17	1,17	0,96
cinzas sulfatadas	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,48	0,42	0,44	0,4	0,4	0,5	0,5	0,39	0,5	0,5	0,41
subst. Insol. água	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,034	0,015	0,013	0,035	0,022	0,054	0,054	0,019	0,023	0,014	0,031
pH	4,4	4,4	4,4	4,4	4,4	4,38	4,28	4,34	4,5	4,25	4,23	4,22	4,28	4,25	4,26	4,42
acidez livre	27,89	27,89	27,89	27,89	27,89	29,29	26,68	25,99	27,32	26,73	33,77	26,37	19,59	29,34	27,73	20,54
acidez lactônica	4,89	4,89	4,89	4,89	4,89	2,19	6,39	3,59	1,45	7,54	3,79	4,29	5,89	7,75	4,65	1,85
acidez total	32,78	32,78	32,78	32,78	32,78	31,48	33,07	29,58	28,77	34,27	37,56	30,66	25,48	37,09	32,38	22,39
índice de formol	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,27	0,78	0,91	1,08	0,76	1,22	0,97	1,02	1,07	0,9	0,68
Índice diastásico	21	21	21	21	21	24	31	33	21	23	28	26	34	20	23	13
hidroximetilfurfural	38,31	38,31	38,31	38,31	38,31	60,13	35,17	35,03	16,01	74,51	30,67	25,58	6,43	7,33	22,74	15,26
Polen predominante	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (69,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (48,5%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (47,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (70,8%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (45,3%)				<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (45,3%)							<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (54,3%)
Polen secundário	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (17,5%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (10,8%)	<i>Ericaceae</i> 28,3%	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (16,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (31,3%)	tipo <i>Erica</i> sp. (39,03%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (31,3%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (37%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (37,3%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (24,4%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (22,8%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (22,9%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (27,4%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (23,4%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (38,3%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (19,5%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (37,8%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (18,8%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (44,5%)	<i>Ericaceae</i> tipo <i>Erica</i> sp. (44,3%)	
Local	Souto	Alcofra		Malhapão	Marruge	Tojeira	Muceres	Muceres	Almijova	Cortiçada	Castelões	Portelada	Carvalho	Bezerreira	S. João do Monte	Jueus

# Ano de 2000

Parâmetros	00D006	00D007	00D022	00G01	00G02	00G03	00G04	00G05	00G06	00D030	00D008	00D017	00D010	00D009
COR	âmbar escuro títido.	âmbar escuro títido.	âmbar escuro	âmbar	âmbar escuro	âmbar escuro títido.	âmbar	âmbar	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar títido.	âmbar	âmbar	âmbar escuro
consistência	tendência a cristalizar	tendência a cristalizar	muito fluido	fluido	Fluido	tendência a cristalizar	Fluido	Fluido	Fluido	muito fluido	tendência a cristalizar	muito fluido	fluido	fluido
água	17,4	17,2	16,88	18,14	15,86	18,18	17,16	17,08	17,84	17,24	17,74	17,38	15,86	16,92
açúcares redutores	74,26	77,38	75,75	75,49	77,36	75,11	74,37	74,81	74,7	74,43	74,9	76,38	76,41	75,26
sacrose aparente	2,09	0,41	3,38	1,96	3,65	0,89	0,9	1,97	0,26	1,96	1,28	0,66	0,66	2,62
frutose	40,31	37,36	42,1	37,38	37,91	37,49	38,99	42,56	43,39	42,6	37,2	37,65	38,46	37,2
glucose	29,33	23,7	27,41	30,52	27,49	29,08	26,3	29,09	30,67	21,14	23,23	28,09	26,89	23,13
sacarose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
condutividade	5,8	6,2	5,8	6,6	5,8	8	5,8	6,2	6	6	5,5	5,8	4,3	4,6
cinzas totais	0,39	0,42	0,39	0,46	0,39	0,57	0,39	0,42	0,41	0,41	0,36	0,39	0,26	0,29
c.solúveis	0,29	0,32	0,29	0,35	0,2	0,48	0,29	0,32	0,31	0,31	0,27	0,29	0,2	0,22
insolúveis	0,1	0,1	0,1	0,11	0,1	0,14	0,1	0,1	0,1	0,1	0,09	0,1	0,06	0,07
alcal. cinz.totais	5,16	5,59	5,16	6,02	5,16	7,52	5,16	5,59	5,37	5,37	4,84	5,16	3,55	3,87
alcal. cinz. solúveis	3,72	4,02	3,72	4,33	3,72	5,41	3,72	4,02	3,87	3,87	3,48	3,72	2,56	2,79
alcal. cinz. insolúveis	1,44	1,57	1,44	1,69	1,44	2,11	1,44	1,57	1,5	1,5	1,36	1,44	0,99	1,08
cinzas sulfatadas	0,6	0,65	0,6	0,7	0,6	0,87	0,6	0,65	0,63	0,63	0,57	0,6	0,42	0,46
subst. Insol. água	0,052	0,059	0,087	0,093	0,063	0,48	0,07	0,024	0,025	0,033	0,016	0,023	0,021	0,024
pH	4,28	4,28	4,31	4,31	4,36	4,36	4,06	4,07	4,19	4,19	4,47	4,04	4,33	4,28
acidez livre	27,99	29,14	23,24	31,74	23,75	32,8	31,64	37,24	31,29	25,8	28,64	34,39	25,54	29,49
acidez lactônica	5,95	5,6	5,45	2,75	4,05	5,75	6,55	6,65	0,15	7,05	0,2	0,75	0,15	0,15
acidez total	33,94	35,14	28,69	34,49	27,79	38,55	38,19	43,89	31,44	32,85	28,84	35,14	25,69	29,64
índice de formol	0,89	0,91	0,7	1,01	1	0,95	1,01	1,04	1,05	0,82	0,98	0,73	0,67	0,94
Índice diastásico	23	29	21	21	28	25	18	23	19	27	24	21	25	20
hidroximetilfurfural	3,96	3,27	8,56	13,46	4,73	12,65	11,22	16,03	11,92	9,38	13,86	2,74	7,45	0,98
Pólen predominante	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 62%	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 62,75%	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 52,75%	<i>Ericacea</i> ( <i>Erica</i> sp.) 87%	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 79,25%	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 64,5%							<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (48%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (48,75%)
Pólen Secundário	<i>Ericacea</i> ( <i>Calluna</i> <i>vulgaris</i> ) (25,5%)	<i>Ericacea</i> ( <i>Calluna</i> <i>vulgaris</i> ) (21,5%)	<i>Eucaliptus</i> <i>glob ulus</i> L. (28,25%)		<i>Ericacea</i> ( <i>Calluna</i> <i>vulgaris</i> ) (21,75%)		<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp.(35,5%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (19,75%)	<i>Castena</i> <i>Sativa</i> Miller (44,75%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (18%)	<i>Ericacea</i> (tipo <i>Erica</i> sp.) 40,25%, <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (19,25%)	<i>Castena</i> <i>sativa</i> Miller (25,5%), <i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp.(23%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (40%), <i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (13,5%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (33%), <i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> L. (29,25%)	<i>Eucaliptus</i> <i>globulus</i> sp. (32,75%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (25%)
Local	Carvalhais- S. Pedro do Sul	Macieira de Sul, S. Pedro do Sul	Sá Carvalhais, São Pedro do Sul	Manhouce, S. Pedro do Sul	Candal - Serra da Gralheira	St. Cruz da Trapa - S. Pedro do Sul	Bordonhos- S. Pedro do Sul	S. Félix- S. Pedro do Sul	S. Pedro do Sul	Outeiro - S. Pedro Sul	Santiago Besteiros - Campo Besteiros	Alcofra - Vouzela	Castelo - S. João Monte	Matadegas S. João Monte

# Ano de 2000

Parâmetros	00D011	00D029	00D028	00D027	00D026	00D021	00D018	00D016	00D020	00D019	00D015	00D014	00D013	00D012
COR	âmbar claro	âmbar	âmbar escuro	âmbar escuro	âmbar tíuid.	âmbar tíuid.	âmbar escuro	âmbar claro	âmbar tíuid.	âmbar escuro tíuid.	âmbar claro	âmbar clara	âmbar clara	âmbar clara
consistência	fluido	fluido	muito fluido	muito fluido	tendência a cristalizar	tendência a cristalizar	fluido	fluido	tendência a cristalizar	tendência a cristalizar	fluido	fluido	fluido	fluido
água	16,54	17,96	19,08	19,6	17,6	16,88	18,14	16,38	18,58	18,94	16,62	16,5	15,74	16,26
açúcares redutores	77,38	73,44	76,14	71,27	74,94	75,21	76,88	76,48	77,32	72,8	77,02	76,91	72,22	74,49
sacrose aparente	1,64	2,7	0,54	0,47	1,54	2,77	1,08	0,66	3,22	1,95	0,67	0,94	4,76	2,05
frutose	38,94	39,85	37,24	36,41	38,91	39,2	37,03	35,34	39,42	35,88	37,29	36,73	37,91	37,71
glucose	28,1	28,66	27,95	27,7	29,3	27,79	26,95	25,11	27,86	28,54	24,15	24,67	25,43	25,88
sacarose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,19	0
condutividade	4,2	5	5,9	6,1	5,8	6,6	6,5	5,7	6,9	7,6	4,8	4,2	4,5	4,2
cinzas totais	0,26	0,32	0,4	0,41	0,39	0,46	0,45	0,38	0,48	0,54	0,31	0,26	0,28	0,26
c.solúveis	0,2	0,24	0,3	0,31	0,29	0,35	0,34	0,29	0,36	0,41	0,23	0,2	0,21	0,2
insolúveis	0,06	0,08	0,1	0,1	0,1	0,11	0,11	0,09	0,12	0,13	0,08	0,06	0,07	0,06
alcal. cinz.totais	3,44	4,3	5,27	5,48	5,16	6,02	5,91	5,05	6,34	7,09	4,08	3,44	3,76	3,44
alcal. cinz. solúveis	2,48	3,1	3,79	3,95	3,72	4,33	4,26	3,64	4,56	5,1	2,94	2,48	2,71	2,48
alcal. cinz. insolúveis	0,96	1,2	1,48	1,53	1,44	1,69	1,65	1,41	1,78	1,99	1,14	0,96	1,05	0,96
cinzas sulfatadas	0,41	0,51	0,62	0,64	0,6	0,7	0,69	0,59	0,74	0,82	0,48	0,41	0,45	0,41
subst. Insol. água	0,017	0,071	0,12	0,069	0,024	0,285	0,04	0,008	0,02	1,385	0,02	0,015	0,006	0,053
pH	4,18	4,12	4,15	4,18	4,18	4,12	4,16	4,11	4,1	4,3	3,95	3,87	4,09	4,06
acidez livre	18,65	26,74	28,69	28,49	27,94	34,9	29,8	26,84	29,49	33,44	31,69	30,29	17,65	20,09
acidez lactónica	1,3	6,4	7,45	7,05	6,85	5,5	0,15	0,2	0,15	0,1	5,65	0,1	4,25	4,65
acidez total	19,95	33,14	36,14	35,54	34,79	40,4	29,85	27,04	29,64	33,54	37,34	30,39	21,9	24,74
índice de formol	0,9	0,76	0,51	0,85	0,83	0,77	0,67	0,84	0,58	0,88	0,66	0,54	0,55	0,6
Índice diastásico	22	27	23	25	29	23	17	25	22	25	22	19	19	17
hidroximetilfurfural	4,82	5,42	9	4,12	5,15	7,78	9,53	12,16	9,52	6,62	8,88	17,33	6,63	7,96
Pólen predominante	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (48%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (63,25%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (76,5%)		<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (47,5%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (49,5%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (49,25%)		<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (47,25%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (57,5%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L.(55,5%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (84,25%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (73,5%)	<i>Leguminosa</i> e (72,75%)
Pólen Secundário	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (21,5%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (21%)		<i>Erica</i> sp. (38,75%), <i>Ericacea Calluna vulgaris</i> (16,5%)		<i>Eucaliptus globulus</i> L. (22%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (24%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (39%), <i>Eucaliptus globulus</i> L. (30%)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (25,75%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Calluna vulgaris</i> (18,75%)	<i>Castena sativa</i> Miller (20,75%)			
Local	Covelo	Carvalhal de Vermilhas - Vouzela	S. João da Serra - Tondela	Monteteso - Varzielas	Frágua - Mosteirinho	Ventosa - Vouzela	Camabra de Baixo - Vouzela	Souto de Lafões - Oliveira de Frades	Poços de Vilhargues - Vouzela	Cadeçais, Forno do Monte), Vouzela	Sejães - Oliveira de Frades	S. Vicente de Lafões - Oliveira de Frades	Reigoso - Oliveira de Frades	Pinheiro de Lafões - Oliveira de Frades

## Ano de 2000

Parâmetros	00D003	00D023	00D025	00D024	00D01	00D002	00D004	00D005
COR	âmbar	âmbar clara	âmbar ruia.	âmbar ruia.	âmbar	âmbar	âmbar claro ruia.	âmbar escuro ruia.
consistência	Fluído	fluído	tendência a espessar	tendência a espessar	Fluído	Fluído	tendência a espessar	tendência a espessar
água	16,81%	17,52%	16,8	16,32	16,29	17,17	16,09	17,57
açúcares reductores	7480,00%	73,5	73,4	75,74	78,59	73,46	77,35	76,15
sacrose aparente	2,7	0,75	1,48	0,91	0,97	1,72	3,19	1,72
frutose	36,9	39,68	37,31	38,15	38,98	38,17	36,38	37,94
glucose	25,32	26,62	27,04	27,08	29,52	27,53	25,1	28,17
sacarose	0	0	0	0	0	0	0,96	0
condutividade	4,2	4,9	5,2	5,2	5,2	5	2,9	5,6
cinzas totais	0,26	0,31	0,34	0,34	0,34	0,41	0,15	0,37
c.solúveis	0,2	0,23	0,26	0,26	0,26	0,31	0,11	0,28
insolúveis	0,06	0,08	0,08	0,08	0,08	0,1	0,04	0,09
alcal. cinz.totais	3,44	4,19	4,51	4,51	4,51	5,37	2,04	4,94
alcal. cinz. solúveis	2,48	3,02	3,25	3,25	3,25	3,87	1,47	3,56
alcal. cinz. insolúveis	0,96	1,17	1,26	1,26	1,26	1,5	0,57	1,38
cinzas sulfatadas	0,41	0,5	0,53	0,53	0,53	0,63	0,25	0,58
subst. Insol. água	0,024	0,029	0,038	0,02	0,079	0,06	0,034	0,056
pH	3,99	3,98	4,23	4,25	4,15	4,23	3,91	4,15
acidez livre	30,79	26,74	23,94	23,39	29,89	26,49	27,74	31,49
acidez lactónica	1,85	7,5	5,7	5,75	0,85	0,45	0,2	1,95
acidez total	32,64	34,24	29,64	29,14	30,79	26,94	27,94	33,44
índice de formol	0,93	0,69	0,85	0,82	0,98	0,97	1,07	1,04
Índice diastásico	38	18	26	25	23	25	27	23
hidroximetilfurfural	1,24	9,33	10,76	10,55	1,05	4,88	2,91	4,87
Pólen predominante	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (47,75%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (56%)		<i>Eucalyptus globulus</i> L. (47,5%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (63,25%)			<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (68,5%)
Pólen Secundário	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (31,25%)		<i>Eucalyptus globulus</i> L. (38,5%), <i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (32,5%)	<i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> (31,75%)		<i>Eucalyptus globulus</i> L. (20%), <i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (15%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (34,75%), <i>Ericacea</i> tipo <i>Erica</i> sp. (23,25%)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (27,25%)
Local	Campia - Vouzela	Urgueira, Macieira de alcoba - Águeda	Tourigo	Barreiro de Besteiros	Pedronhe		Silvares	Campia

